

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号  
特表2002-503331  
(P2002-503331A)

(43) 公表日 平成14年1月29日 (2002.1.29)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	キーワード (参考)
G 0 1 N	21/07	G 0 1 N	21/07
	11/10		11/10
	15/00		15/00
	21/27		21/27
	21/64		21/64
			Z
			Z
			Z
審査請求 有		予備審査請求 有	(全 186 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平9-521481	(71) 出願人	ガメラ バイオサイエンス コーポレイション
(86) (22) 出願日	平成8年12月5日 (1996.12.5)		アメリカ合衆国 02155 マサチューセツ州 メッドフォード ポストン アヴェニュー 200
(85) 翻訳文提出日	平成10年6月5日 (1998.6.5)	(72) 発明者	ミアン、アレック
(86) 国際出願番号	PCT/US96/19514		アメリカ合衆国 03139 マサチューセツ州 ケインブリッジ マガズイン ストリート 137
(87) 国際公開番号	WO97/21090	(74) 代理人	弁理士 三好 秀和 (外1名)
(87) 国際公開日	平成9年6月12日 (1997.6.12)		
(31) 優先権主張番号	60/008, 215		
(32) 優先日	平成7年12月5日 (1995.12.5)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/008, 267		
(32) 優先日	平成7年12月6日 (1995.12.6)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 機内に搭載された情報科学を備えた超微量液体素子工学システムにおいて液体移動を推進するために求心性加速を使用するための装置及び方法

(57) 【要約】

本発明は、超微量分析的及び超微量合成的分析及び方法を実行するための方法及び装置に関する。本発明は、マイクロチャネルを通しての液体移動を促進するためにプラットフォームの回転の結果として生じる求心力を利用するプラットフォームを操作するためのマイクロシステム・プラットフォーム及び超小型操作装置を提供する。本発明のマイクロシステム・プラットフォームはさらに、液体素子工学成分を含んでいる面の反対側のディスクの表面上にコーディングされたシステム情報学及びデータ獲得、分析及び記憶さらに検索情報学を備えて提供される。広汎な超微量分析的又は超微量合成的工程を実行するための本発明の装置に特異的な方法も又提供される。

BEST AVAILABLE COPY

## 【特許請求の範囲】

1. 第1の平坦な二次元の面とそれに向かい合う第2の平坦な二次元の面を持つ基板を含み、第1面がその中に埋め込まれる複数のマイクロチャネルと検体入力手段を含み、検体入力手段とマイクロチャネルが接続され、流体接触し、プラットホームの第1の平坦な二次元の面に向かい合う第2の平坦な二次元の面が、プラットホームの回転の速度、期間、または方向を制御するための電磁的に読取り可能な命令セットで符号化されるマイクロシステム・プラットホームと、

回転手段がマイクロシステム・プラットホームに機能的に作用するように連結され、それと回転接触する、基部、回転手段、電源およびユーザ・インタフェースを含む微小操作装置と操作制御手段と、

の組み合わせである向心的に動かされる流体微小操作機器であって、

プラットホームのマイクロチャネル内の多量の流体が、流体をマイクロチャネルを通して移動させるのに十分な時間の間、および回転速度でプラットホームの回転運動から生じる向心力によって前記マイクロチャネルを通して移動される、

向心的に動かされる流体微小操作機器。

2. 第1の平坦な二次元の面とそれに向かい合う第2の平坦な二次元の面のある基板を含み、第1面が複数のマイクロチャネル、反応チャンバー、およびその中に埋め

込まれる試薬貯蔵器、および検体入力手段を含み、検体入力手段、マイクロチャネル、反応チャンバー、および試薬貯蔵器が接続され、流体接触し、プラットホームの第1の平坦な二次元の面に向かい合う第2の平坦な二次元の面が、プラットホームの回転の速度、期間または方向を制御するために電磁的に読取り可能な命令セットで符号化される、マイクロシステム・プラットホームと、

回転手段がマイクロシステム・プラットホームに機能的に作用して、それと回転接触して連結される、基部、回転手段、電源、およびユーザ・インタフェースを含む微小操作装置、および操作制御手段と、

の組み合わせである、向心的に動かされる流体微小操作機器であって、

プラットホームのマイクロチャネル内の多量の流体が、流体をマイクロチャネ

ルを通して移動させるのに十分な時間の間、および回転速度でプラットフォームの回転運動から生じる向心力によって前記マイクロチャネルを通して移動される、向心的に動かされる流体微小操作機器。

3. 第1の平坦な二次元の面とそれに向かい合う第2の平坦な二次元の面のある基板を含み、第1面が、複数のマイクロチャネル、反応チャンバー、その中に埋め込まれる試薬貯蔵器、および検体入力手段を含み、検体入力手段、マイクロチャネル、反応チャンバー、および試薬貯蔵器が接続され、流体接触し、マイクロチャネル、反

応チャンバー、および試薬貯蔵器からの流体運動が、それに接続されるマイクロ弁によって制御され、プラットフォームの第1の平坦な二次元の面に向かい合う第2の平坦な二次元の面が、プラットフォームの回転の速度、期間または方向を制御するための電磁的に読取り可能な命令セットで符号化されるマイクロシステム・プラットフォームと、

回転手段がマイクロシステム・プラットフォームに機能的に作用して、それと回転接触して連結される、基部、回転手段、電源、およびユーザ・インタフェースを含む微小操作装置、および操作制御手段と、

の組み合わせである向心的に動かされる流体微小操作機器であって、

プラットフォームのマイクロチャネル内の多量の流体が、流体をマイクロチャネルを通して移動させるのに十分な時間の間、および回転速度でプラットフォームの回転運動から生じる向心力によって前記マイクロチャネルを通して移動される、向心的に動かされる流体微小操作機器。

4. マイクロシステム・プラットフォームの第1の平坦な二次元の面と第2の平坦な二次元の面がディスクを形成する、請求項1に記載の機器。

5. マイクロシステム・プラットフォームの第1と第2の平坦な二次元の面が、微小操作装置上のスピンドルに取り付けられる向心的に配置される開き口を限定し、それ

によりスピンドルの回転運動がマイクロシステム・プラットフォームの回転運動に

変換される、請求項1に記載の機器。

6. マイクロシステム・プラットフォームが、有機物質、無機物質、結晶質物質、および非晶質物質から成り立つグループから選択される材料から構成される、請求項1に記載の機器。

7. マイクロシステム・プラットフォームが、さらに、珪素、シリカ、石英、セラミック、金属またはプラスチックから成り立つグループから選択される材料を含む、請求項6に記載の機器。

8. マイクロシステム・プラットフォームが、約1 cmから25 cmの半径のディスクである、請求項4に記載の機器。

9. マイクロシステム・プラットフォームが約0.1 mmから100 mmの厚さであり、第1と第2の平坦な二次元面の間のマイクロチャネルの断面寸法が500  $\mu$ mを下回り、プラットフォームの前記断面寸法の1パーセントから90パーセントである、請求項1に記載の機器。

10. マイクロシステム・プラットフォームが約0.1 mmから100 mmの厚さであり、第1と第2の平坦の二次元面の間の反応チャンバーまたは試薬貯蔵器の断面寸法が、プラットフォームの前記厚さの1パーセントから75パーセントである、請求項10に記載の機器。

11. マイクロシステム・プラットフォームが、約1 r p

mから約30,000 r p mの回転速度で回転される、請求項1に記載の機器。

12. マイクロシステム・プラットフォームが、複数の検体入力手段、試薬貯蔵器、反応チャンバー、およびそれに接続され、その中に埋め込まれるマイクロチャネルを含み、検体を含む多量の流体が、マイクロシステム・プラットフォームの回転から生じる向心力により、ディスク上で検体入力手段から反応チャンバーの中に、および反応チャンバーから移動され、多量の試薬が試薬貯蔵器から反応チャンバーの中に、および反応チャンバーから移動される、請求項1に記載の機器。

13. マイクロシステム・プラットフォームが、プラットフォームの第1の平坦な二次元面内に埋め込まれ、マイクロチャネルに接続される検出チャンバーを含み、微小操作装置が、検出チャンバーがアッセイ出力を出すために、検出手段によっ



て検定される検出手段を含む、請求項1に記載の機器。

14. 装置上の検出手段が、マイクロシステム・プラットフォームの回転運動によりプラットフォーム上の検出チャンバーと位置合わせされる、請求項13に記載の機器。

15. 検出手段が光源と光検出器を含む、請求項13に記載の機器。

16. 光源が検出チャンバーを照明し、光が検出チャンバーを通して横に反射され、光検出器により検出される、請求項15に記載の機器。

17. マイクロシステム・プラットフォーム上の検出チャンバーが光学的に透明である、請求項16に記載の機器。

18. 検出手段が静止しており、プラットフォームの回転の頻度またはその倍数に等しい頻度で検出チャンバーをサンプリングする、請求項14に記載の機器。

19. 検出手段がストロボスコープ光源を含む、請求項18に記載の機器。

20. 検出手段が単色光源である、請求項19に記載の機器。

21. 検出手段が、吸光度、蛍光、化学ルミネセンス、光分散または放射能を検出する、請求項13に記載の機器。

22. さらに、マイクロプラットフォームと熱接触する温度調節要素を含む、請求項1に記載の機器。

23. さらに、マイクロプラットフォームと熱接触する熱検出手段を含む、請求項1に記載の機器。

24. マイクロシステム・プラットフォームが、マイクロチャンネルに連結される濾過手段を含む、請求項1に記載の機器。

25. マイクロシステム・プラットフォームが、反応貯蔵器またはマイクロチャンネルに接続される混合要素を含む、請求項1に記載の機器。

26. マイクロシステム・プラットフォームが、反応貯蔵器またはマイクロチャンネルのきめが出された面を含む静的混合機を含む、請求項25に記載の機器。

27. マイクロシステム・プラットフォームが、マイクロチャンネル、反応貯蔵器、試薬チャンバー、検体入力手段、および検体流出ポートに機能的に作用するよう

に連結される複数のマイクロ弁を含み、マイクロシステム・プラットフォーム上での流体フローが、マイクロ弁の開閉により制御される、請求項3に記載の機器。

28. マイクロシステム・プラットフォームが、反応チャンバーまたはマイクロチャンネルに接続される毛細管マイクロ弁を含む、請求項27に記載の機器。

29. マイクロシステム・プラットフォームが、複数の空気チャンネル、排気ポート、および空気排気量チャンネルを含む、請求項1に記載の機器。

30. 装置の回転手段が電気モーターである、請求項1に記載の機器。

31. 装置が、マイクロシステム・プラットフォームの回転の加速と速度を制御するための回転運動制御手段を含む、請求項1に記載の機器。

32. 装置が、モニタと英数字キーパッドを含むユーザ・インタフェースを具備する、請求項1に記載の機器。

33. 装置が、交流電源または直流電源を含む、請求項1に記載の機器。

34. マイクロシステム・プラットフォームが、微小操作装置に接続される電気コネクタと接触する電気コネクタを具備する、請求項1に記載の機器。

35. 装置がマイクロプロセッサとそれに接続されるメモ

リを含む、請求項1に記載の機器。

36. 装置が読取り手段と書込み手段を含む、請求項1に記載の機器。

37. 読取り手段がコンパクト・ディスク・レーザ読取り手段である、請求項36に記載の機器。

38. 書込み手段がコンパクト・ディスク書込み手段である、請求項36に記載の機器。

39. マイクロシステム・プラットフォームの第2の平坦な二次元面が、機械言語命令で符号化される、請求項1に記載の機器。

40. 機械言語命令が、プラットフォームの動作、プラットフォームからのデータの取得または分析、データの記憶と検索、他の装置への通信、または直接機器性能診断を制御する、請求項39に記載の機器。

41. 微小操作装置が、機械言語命令で符号化される、読取専用メモリ、または恒久的な記憶メモリを具備する、請求項1に記載の機器。

42. 機械言語命令が、プラットフォームの動作、プラットフォームからのデータの取得または分析、データの記憶と検索、他の装置への通信、または直接機器性能診断を制御する、請求項41に記載の機器。

43. さらに、各マイクロシステム・プラットフォームの1つの二次元面全体で互いに接触する第1マイクロシステム・プラットフォームと第2マイクロシステム・プラットフォームを含む、請求項1に記載の機器。

44. マイクロシステム・プラットフォームが、約1rpmから約30,000rpmの速度で回転される、請求項1に記載の機器。

45. マイクロシステム・プラットフォーム上の流体が、毎秒約0.1cmから毎秒約1000cmの流体速度でプラットフォームのマイクロチャネル内で移動される、請求項1に記載の機器。

46. マイクロシステム・プラットフォームが、

検体入口ポートのそれぞれが機能的に作用するように以下に連結される、プラットフォームの中心の回りに同心円的に配置される複数の検体入口ポートと、

プラットフォームの中心から離れて放射状に配列され、以下に機能的に作用するように連結される複数のマイクロチャネルと、

測定対象の分析物に特殊な試薬が入り、貯蔵器のそれぞれからの試薬の解放がマイクロ弁によって制御され、複数のマイクロチャネルも以下に機能的に作用するように連結される、複数の試薬貯蔵器と、

マイクロプラットフォームの外縁の回りに周縁的に配置される複数の分析物検出チャンバーと、

を含み、

検体入口ポートからの、およびマイクロチャネルを通る生物学的な検体の移動、および試薬貯蔵器からの、およびマイクロチャネルを通る試薬の移動が、マイクロシステム・プラットフォームの回転運動によって生じる向心

力によって動かされる、

生物学的検体中の分析物の量を測定するための、請求項1に記載の機器。

47. 生物学的な検体が血液、尿、髄液、血漿、唾液、精液、または羊水である、請求項46に記載の機器。

48. 分析物検出チャンバーが光学的に透明である、請求項46に記載の機器。

49. さらにマイクロ弁のそれぞれと電気コントローラ装置の間の電氣的な配線を含む、弁の開閉がコントローラ装置からの電気信号によって制御される、請求項46に記載の機器。

50. マイクロチャンネルが、プラットフォームの中心から周辺部に直線状に配列される、請求項46に記載の機器。

51. マイクロチャンネルが、プラットフォームの中心から周辺部に同心円的に配列される、請求項46に記載の機器。

52. 微小操作装置が検出手段を含む、請求項46に記載の機器。

53. 検出手段が静止しており、プラットフォームの回転の頻度またはその倍数に等しい頻度で分析物検出チャンバー出力をサンプリングする、請求項46に記載の機器。

54. 検出手段がストロボスコープ光源を含む、請求項46に記載の機器。

55. 検出手段が単色光源である、請求項46に記載の機器。

56. 検出手段が、蛍光、化学ルミネセンス、光分散、または放射能を検出する、請求項46に記載の機器。

57. 生物学的な検体中の分析物の量を測定するための方法であって、

生物学的な検体を請求項46に記載のマイクロシステム・プラットフォームの検体入口ポートに塗布するステップと、

マイクロシステム・プラットフォームを微小操作装置内に配置するステップと、

マイクロチャンネルを通して検体入口オートから分析物を含む生物学的な検体を動かすのに十分な時間、および速度でマイクロシステム・プラットフォームに回転運動を提供するステップと、

試薬がマイクロチャンネルの中に移動し、生物学的な検体と混合される時間および期間の間、制御装置から信号を生成することによって、試薬貯蔵器からの試薬



の解放を制御するマイクロ弁のそれぞれを開放するステップと、

生物学的な検体と、装置を含む検出器が、生物学的な検体中に存在する分析物の量に比例する信号を検出する分析物検出チャンバー内の試薬の混合を観察するステップと、

生物学的な検体中の分析物の量の測定値を記録するステップと、  
を含む方法。

58. 生物学的な検体が、血液、尿、髄液、血漿、唾液、

精液または羊水である、請求項57に記載の方法。

59. 検体中の分析物の量の測定値が、装置内で、マイクロプラットフォーム上で、あるいはその両方で記録される、請求項57に記載の方法。

60. マイクロシステム・プラットフォーム上の分析物検出チャンバーが光学的に透明である、請求項57に記載の方法。

61. 検出された信号が分析物であり、検出チャンバーがプラットフォームまたはそのmultiplesdの回転の頻度に等しい頻度で検出される、請求項57に記載の方法。

62. 検出された信号が単色光源である、請求項57に記載の方法。

63. 検出された信号が蛍光信号、化学ルミネセンス信号、または比色信号である、請求項62に記載の方法。

64. マイクロシステム・プラットフォームが、

プラットフォームの中心の回りに同心円的に配列され、検体ポートが吸気穴と接続漏斗チャネルを含み、検体入口ポートのそれぞれが機能的に作用するように以下に連結される、複数の検体入口ポートと、

プラットフォームの中心から離れて放射状に配列され、機能的に作用するように以下に連結される複数のマイクロチャネルと、

検出対象の気体または粒子に特殊な試薬が入った、貯蔵器のそれぞれからの試薬の開放がマイクロ弁によって制御され、マイクロ弁がコントローラ装置と電気接触し、

複数のマイクロチャネルも機能的に操作するように以下に連結される、複数の試薬貯蔵器と、

マイクロプラットフォームの外縁の回りに周縁的に配列される複数の気体または粒子の検出器と、

を含み、

検体入口ポートからの、およびマイクロチャネルを通る環境検体の移動と、試薬貯蔵器からの、およびマイクロチャネルを通る試薬の移動が、マイクロシステム・プラットフォームの回転運動により生じる向心力により動かされる、

環境検体を含む気体または粒子を検出するための請求項1に記載の機器。

65. 環境検体が、空気、水、土壌、または粉碎された生物学的物質を含む、請求項64に記載の機器。

66. 検出器がガス・センサ・チップを含む、請求項64に記載の機器。

67. 検出器が、光学的に透明の粒子回収チャンバーを含む、請求項64に記載の機器。

68. 検出器がコヒーレント光源も含む、請求項67に記載の機器。

69. 粒子が光分散により検出される、請求項68に記載の機器。

70. 検出器が、マイクロチャネルによって、粒子を化学的に試験するための試薬を含む試薬貯蔵器に機能的に作用するように接続される粒子回収チャンバーを含む、

請求項64に記載の機器。

71. 環境検体を含む気体または粒子を検出するための方法であって、

環境検体を請求項64に記載のマイクロシステム・プラットフォームの検体入口ポートに接触させるステップと、

マイクロシステム・プラットフォームを微小操作装置内に配置するステップと、

マイクロチャネルを通して検体入口ポートから気体のまたは粒状の環境検体を動かすのに十分な時間の間、および速度でマイクロシステム・プラットフォームに回転運動を提供するステップと、

試薬がマイクロチャネル内に移動し、環境検体と混合される時間で、および期

間の間、制御装置から信号を生成することにより、試薬貯蔵器からの試薬の開放を制御するマイクロ弁のそれぞれを開放するステップと、

検出器が、環境検体中に存在する気体または微粒子の量に比例した信号を検出する気体または粒子の検出チャンバー内で、直接的に、環境検体と試薬の混合物または環境検体の気体構成要素または粒状の構成要素を検出するステップと、

気体の量または環境検体の中の粒子の量を計量するステップと、  
を含む、方法。

72. 環境検体が、空気、水、土壌、または粉碎された生物学的な物質を含む、請求項71の方法。

73. 気体が、ガス・センサ・チップによって検出される、請求項71に記載の方法。

74. 粒子が、光学的にト透明な粒子回収チャンバーで検出される、請求項71に記載の方法。

75. 粒子がコヒーレント光分散により検出される、請求項71に記載の方法。

76. 粒子が、粒子を化学的に試験するための試薬を含む試薬貯蔵器にマイクロチャンネルによって機能的に作用するように接続される粒子回収チャンバーで検出され、微粒子が、マイクロ弁の起動およびプラットフォームの回転による試薬の解放後に、マイクロチャンネル内の試薬と、混合、反応される、請求項71に記載の方法。

77. マイクロシステム・プラットフォームが、マイクロチャンネル、検体入口ポート、反応物貯蔵器、反応チャンバーおよび検体出口ポートを含む薄膜ディスクの積み重ねられた層から構成され、積み重ねられた膜ディスクのそれぞれが自立式で、本発明のプラットフォームを提供する、請求項1に記載の機器。

78. マイクロシステム・プラットフォームが、約100 $\mu$ mの直径のマイクロチャンネルの放射状のアレイから構成され、マイクロチャンネルが凝固を防止するためにヘパリンで処理され、マイクロチャンネルがディスクの中心に近接の一端で開放されている、血液検体からヘマトクリット値を求めるための請求項1に記載の機器であって、コヒーレント光源と、微小操作装置を含む、機能的に作

用するようにそれに接続される記録手段も含み、血液検体のマイクロチャネルを通る移動が、マイクロシステム・プラットフォームの回転運動により生じる向心力によって動かされる機器。

79. コヒーレント光源が、プラットフォームの回転の中心から放射状に配列される可動トラック上に取り付けられる、請求項78に記載の機器。

80. さらに、マイクロシステム・プラットフォームのマイクロチャネルのそれぞれに機能的に作用するように接続されるクラーク電極を含み、電極がマイクロチャネル内の血液検体と接触する、請求項78に記載の機器。

81. さらに、マイクロシステム・プラットフォームのマイクロチャネルのそれぞれに機能的に作用するように接続される切断電極を含み、電極がマイクロチャネル内の血液検体と接触する、請求項78に記載の機器。

82. 血液検体からヘマトクリット値を求めるための方法であって、

血液検体を請求項78に記載のマイクロシステム・プラットフォームのマイクロチャネルの近接端に塗布するステップと、

マイクロシステム・プラットフォームを微小操作装置内に配置するステップと、

マイクロチャネルの程度に沿って移動するための血液検体を含む赤血球を動かすのに十分な時間と速度でマイクロシステム・プラットフォームに回転運動を提供するス

テップと、

コヒーレント光源でマイクロチャネルをその長さに沿ってスキャンするステップと、

赤血球と血漿の間の境界を限定するマイクロチャネルに沿った任意の位置にある光分散での変化を検出するステップと、

各マイクロチャネルの境界の位置を記録するステップと、

ヘマトクリット値を境界の位置に関係付ける標準的な曲線と、各マイクロチャネルのこの境界の位置を比較し、それによって求められたヘマトクリットを記録するステップと、

を含む方法。



83. 血液検体から血液酸素化値を求めるための方法であって、

血液検体を、請求項80に記載のマイクロシステム・プラットフォームのマイクロチャネルの近接端に塗布するステップと、

マイクロシステム・プラットフォームを微小操作装置内に配置するステップと、

マイクロチャネルに接続されるク拉克電極に接触するために血液検体を動かすのに十分な時間と速度でマイクロシステム・プラットフォームに回転運動を提供するステップと、

血液検体の血液酸素化値を検出するステップと、

それによって求められた血液酸素化値を記録するステップと、  
を含む方法。

84. マイクロシステム・プラットフォームが、複数の検体入力手段、反応物貯蔵器、反応チャンバー、マイクロ弁、およびそれに機能的に作用するように接続され、その中に埋め込まれたマイクロチャネルを含み、マイクロシステム・プラットフォームが層の積み重ねられたアレイから構成され、第1層が検体入力手段、反応物貯蔵器、反応チャンバー、およびマイクロチャネルを含み、第2層がマイクロ弁を含み、第3層がマイクロ弁から電気コントローラ装置への電気コネクションを含み、第4層が密封層を含み、層がマイクロシステム・プラットフォームの一般的な基板の上部に積み重ねられ、それに溶融される、請求項1に記載の機器。

**【発明の詳細な説明】**

機内に搭載された情報科学を備えた超微量液体素子工学システムにおいて液体移動を推進するために求心性加速を使用するための装置及び方法

本出願は、各々の開示が明確に本書に引用例として組み入れられている米国特許仮明細書である1995年12月5日に出願された出願番号第60/008,215号、1995年12月6日に出願された第60/008,267号、1995年12月8日に出願された第60/008,819号及び1996年8月12日に出願された第60/023,756号に対する優先権を主張する。

**発明の背景****1. 発明の分野**

本発明は、超微量分析的及び超微量合成的分析及び方法を実行するための方法及び装置に関する。特に、本発明は分析、合成及び精製に関連する遺伝学的、生化学的及び化学的工程の超小型化に関する。より詳細には、本発明はマイクロプラットフォームに埋め込まれたマイクロチャネルを通っての液体移動を推進するためにプラットフォームの回転の結果として発生する求心力を利用することにより、回転によってプラットフォームを操作するためのマイクロシステム・プラットフォーム及び超小型操作装置を提供する。本発明のマイクロシステム・プラットフォームはさらに又、液体素子工学成分を含んでいる面の反

対側のディスクの表面上にコーディングされたシステム情報学及びデータ獲得、分析及び記憶さらに検索情報学を備えて提供される。さらに又、本発明のマイクロシステム装置を使用して広汎な超微量分析的又は超微量合成的工程を実行するための方法も提供される。

**2. 関連技術の背景**

医学的、生物学的及び化学的アッセイの分野においては、肉眼的レベル（例、ミリリットル及びミリグラム）を操作するために製造された機械的かつ自動の液体処理システム及び装置は先行技術において周知である。

Berlaudiereら. に対して1981年7月21日に発行された米国特許第4,279,862号は、遠心測光分析装置を開示している。

Ekinsに対して1983年4月26日に発行された米国特許第4,381,291号は、遊離配位子の分析的測定を教示している。

Kloseら.に対して1985年5月7日に発行された米国特許第4,515,889号は、分析的測定を実行するための自動混合用及び培養用試薬を教示している。

Edelmannら.に対して1987年6月30日に発行された米国特許第4,676,952号は、測光分析装置を教示している。

Ekinsに対して1988年5月17日に発行された米国特許第4,745,072号は、生物学的液体における免疫アッセイ（免疫検定法）を開示している。

Kopf-Sillら.に対して1992年11月3日に発行された米

国特許第5,160,702号は、液体中の固体を分析するための遠心ローター（攪拌器）を開示している。

Ekinsに対して1992年12月15日に発行された米国特許第5,171,695号は、2つの標識マーカを用いる分析物濃度の測定法を開示している。

Burtisら.に対して1996年12月22日に発行された米国特許第5,173,262号は、液体を処理するための遠心ローター（攪拌器）を開示している。

Burtisら.に対して1993年9月7日に発行された米国特許第5,242,803号は、アッセイを実行するためのローター・アッセンブリー（攪拌器組立体）を開示している。

Burdに対して1995年4月25日に発行された米国特許第5,409,665号は、遠心ローター（攪拌器）におけるキュベット充填を開示している。

Buhlら.に対して1995年5月9日に発行された米国特許第5,413,732号は、自動遠心血液分析装置において使用するための凍結乾燥試薬球の調製を教示している。

Ekinsに対して1995年7月11日に発行された米国特許第5,432,009号は、液体中の分析物を分析するための方法を開示している。

Schembriに対して1995年12月5日に発行された米国特許第5,472,603号は、液体分離を実行するための分析用ローター（攪拌器）を開示している。

Anderson, 1968, Anal. Biochem. 第28巻:545-562頁は、細胞分別のためのマ

ルチプルキューベット・ローター（攪

拌器）を教示している。

Renoeら., Clin. Chem. 第20巻:955-960頁は、遠心分析装置のための「ミニディスク」モジュールを教示している。

Burtisら., Clin. Chem. 第20巻:932-941頁は、遠心分析装置内への液体の動的導入のための方法を教示している。

Fritscheら. 1975, Clin. Biochem. 第8巻:240-246頁は遠心分析装置を使用した血糖値の酵素分析を教示している。

Burtisら., Clin. Chem. 第21巻:1225-1233頁は、遠心分析装置と一緒に使用するための多目的光学システムを教示している。

Hadjioannouら. 1976, Clin. Chem. 第22巻:802-805頁は、小型遠心分析装置を用いた生物学的液体中の自動酵素エタノール測定法を教示している。

Leeら., 1978, Clin. Chem. 第24巻:1361-1365頁は、自動血液分別システムを教示している。

Choら., 1982, Clin. Chem. 第28巻:1965-1961頁は、マルチチャネル電気化学的遠心分析装置を教示している。

Bertrandら., 1982, Clinica Chimica Acta第119巻:275-284頁は、遠心分析装置を用いた血清中5'-ヌクレオチダーゼ値の自動測定法を教示している。

Schembriら., 1992, Clin. Chem. 第38巻:1665-1670頁は、ポータブル型全血分析装置を教示している。

Waltersら., 1995, Basic Medical Laboratory Technologies, 第3版（基礎的臨床検査テクノロジー第3版）, Delmar Publishers:Bostonは、様々な自動臨床検査分析技術を教示している。

近年、選択反応経路を実行するための超微量分析装置が開発されてきた。

Whiteに対して1991年4月9日に発行された米国特許第5,006,749号は、超小型素子を移動させるのに超音波エネルギーを使用するための方法及び装置を開示している。



Kroyら. に対して1993年10月12日に発行された米国特許第5,252,294号は、一定の化学的超微量分析を実行するための超小型機械的構造を教示している。

Wildingら. に対して1994年4月19日に発行された米国特許第5,304,487号は、超微量スケール分析用装置での液体処理法を教示している。

Madouら. に対して1994年11月29日に発行された米国特許第5,368,704号は、超小型電気化学的弁を教示している。

ペンシルバニア大学に対して1993年11月11日に発行された国際出願第W093/22053号は、超小型組立検出構造を開示している。

ペンシルバニア大学に対して1993年11月11日に発行された国際出願第W093/22058号は、ポリヌクレオチド増幅を実行するための超小型組立構造を開示している。

Columbusら., 1987, Clin. Chem. 第33巻:1531-1537頁は、生物学的液体の液体管理法を教示している。

Ekinsら., 1992, Ann. Biol. Clin. 第50巻:337-353頁は、多重分析的マイクロスポット・免疫アッセイを教示している。

Wildingら., 1994, Clin. Chem. 第40巻:43-47頁は、シリコン中に超小型機械加工された直線チャネル上での液体の操作法を開示している。

先行技術は、超微量分析的及び超微量合成的方法を実行するための合成マイクロチップを開示している。先行技術の超微量分析的方法及び装置における1つの欠点は10-100  $\mu\text{m}$  範囲内の径を有するチャネル及びリザーバーを通してマイクロチップ上で液体を移動させるためのシステムを設計することにおける困難であった。さらに、先行技術で開示された装置は超微量分析を実行するために個別データ分析及び記憶媒体を1つの装置内に統合することを必要としたが、それによってこれらの装置の柔軟性又は有用性が付随的に増加せずに、マイクロチップを使用するために設計された装置の複雑さが不必要に増加した。

そこでマイクロシステム・プラットフォームの構造成分内で液体を移動させることのできる生物学的、生化学的及び化学的分析及び合成を実行するための単純で、柔軟で、信頼でき、迅速かつ経済的な超微量分析用及び超微量合成用の反応プ

ラットホームの必要性が残っている。そうしたプラットホームは、反応成分の適正な混合、反応副産物の除去及び必要な反応生成物及び中間物の分離

を有効に実施するのに適した迅速な速度で試薬及び反応物質を含むナノリットルからマイクロリットル量の液体を移動させることができない。さらに又、液体移動、熱制御、試薬混合、反応物質検出、データ獲得、データ分析及びユーザーとのデータ及びシステムのインターフェースを有効に実行するためにマイクロシステム・プラットホームを操作するための装置も必要とされる。別の実施態様では、そうした装置は洗練されている（例えば病院のように専門家用）、使用法が容易である（例えば在宅モニタリングのように消費者用）及びポータブル型である（例えば環境検査のように現場用）ことが必要とされる。そうした装置はさらに有益に「湿式」化学の能力を情報処理、記憶及び操作能力と結合させる。

#### 発明の要約

本発明は、超微量分析スケールで広範な生物学的、生化学的及び化学的分析を実施するための統合された超微量分析的／超微量合成的システムを提供する。本発明は、液体がプラットホームの回転から発生する求心力によって刺激されてプラットホーム上の限定されたチャネル内に移動することを含む、そうした超微量分析スケールの工程をマイクロプラットホーム上で実施するための装置及び方法を提供する。

本発明の1つの態様では、2つの要素の組み合わせを含む超微量分析的／超微量合成的システムが提供される。

第1要素は回転式構造の最も好ましくはディスクであるマイクロプラットホームであり、このとき前記ディスクは試料流入口、液体マイクロチャネル、試薬リザーバー、反応チャンバー、検出チャンバー及び試料流出口を含んでいる。ディスクは、液体移動を可能にする求心性加速を発生させるために約1-30,000rpmの速度で回転させられる。本発明のディスクはさらに又、好ましくは液体流入口、排気口及び換気チャネルを含んでいる。液体流入口によって試料は処理及び／又

は分析のためにディスク内に流入できる。排気口及び特に換気口は液体が空気を排気するための手段を提供し、これによってディスク上での液体の抑制されない移動が保証される。ディスク上の特定の部位は又好ましくは、熱源、光源、特に単色光源及び音響源並びにこれらのエフェクター各々に対する検出器を含む液体を分析できる要素を含んでいる。その代わりに、これらの要素の一部又は全部は第1ディスクと光学的に連絡している、又は物理的に直接接触している第2ディスク上に含めることができる。

本発明の第2要素は、ディスクの機能を制御するディスクプレイヤー／リーダー装置である超小型操作装置である。この装置はディスクにローディングして回転することを可能にする機構及び駆動装置を含んでいる。さらに、この装置は、好ましくはキーパッド及びコンピュータ・ディスプレイを使用して、ユーザーがディスク上でマイクロシステムを作動させ、データをアクセスして分

析するための手段を提供する。

本発明は、分析物を含有する液体、細胞及び／又は微粒子から構成される試料を操作するための方法及び装置を提供する。本発明のマイクロプラットホーム・ディスクは試料流入口、マイクロチャネル、チャンバー、弁、加熱器、冷却器、電気泳動及び検出システムを含むがこれらに限定されないものから構成されるマイクロシステムをディスク上に含んでいる。試料の移動は、空気は排気できるが、賢明にも加速後の液体及び／又は微粒子の損失を防止する空気穴及び排気チャネルを組み入れることによって容易になる。

本発明のディスクの好ましい実施態様は、超小型機械加工された機械的、光学的及び流体学的制御構造（又は「システム」）を好ましくはプラスチック、珪素、石英、金属又はセラミックから作られている基板上に組み入れている。これらの構造は写真平板、エッチング、スタンピング又はその他の適切な手段によってミリメートルより下のスケールで構成される。

試料の移動は求心性又は線形加速及びディスク上の弁の選択的作動化によって制御される。

本発明の好ましい実施態様では、ディスクの部分は標準読み書きデジタルテク

ノロジーによる情報処理専用とされている。処理及び分析の結果として生じたデータはデジタル記録手段を用いてディスク表面上に記録される。さらに別の好ましい実施態様では、ディスク上の読み出

し専用メモリ (ROM) はユーザーがディスクを操作することによってアクセスできるディスク情報、インストラクション (命令)、実験プロトコル、データの分析及び統計的方法を含んでいる。

求心性加速による液体輸送の工程及びそうした工程を可能にする超小型操作装置には液体の合成と分析及び液体特に生物学的液体を含む分析物の検出において広範な用途がある。化学的及び生化学的反応は、細管、機械的又は熱的弁機構によって連続する試薬チャンバーの選択的開放によってディスク上の反応チャンバー内で実施される。それらのチャンバーの内容物は求心性促進を適用して反応チャンバー内に運ばれる。反応生成物はその後、検出システムによって引き続いての反応のための試薬として使用する、検出システムによって問い合わせる、又は回収することができる。

本発明の装置の一定の好ましい実施態様については本出願の下記の章及び図面においてより詳細に説明する。

#### 図面の簡単な説明

図1 A (平面図) 及び1 B (側面図) は、本発明のマイクロプラットホームを含んでいるディスクにおけるリザーバー (12、14、18、20)、弁 (13、15、17、19、21、23、25)、反応チャンバー (16、22、24)、流入・流出口 (11、32) 及び通気孔 (29、33、34、35) の配列を例示している。

図1 Cは、ディスク上の多数のマイクロシステムの配列を示している。

図2 Aはグラフであり、図2 Bは方程式5に関連して説明されている本発明のディスク上のチャネルの配列の略図である。

図3 Aはグラフであり、図3 Bは方程式12及び13に関連して説明されている本発明のディスク上のチャネルの配列の略図である。



図4 Aはグラフであり、図4 Bは方程式1 4に関連して説明されている本発明のディスク上のチャンネルの配列の略図である。

図5 A、5 B及び5 Cはグラフであり、図5 Dは方程式1 5に関連して説明されている本発明のディスク上のチャンネルの配列の略図である。

図6は、圧電電気スタック超小型弁の略図である。

図7は、空気圧作動式超小型弁の略図である。

図8は、旋回中のディスクへ空気圧を送達するための装置の略図である。

図9は、パイメタル製超小型弁の略図である。

図1 0は、圧力バランス式超小型弁の略図である。

図1 1は、高分子緩和超小型弁の略図である。

図1 2 A及び1 2 Bは、本発明の蛍光検出器の2 種の実施態様を表している。

図1 3 A、1 3 B及び1 3 Cは、ディスクのためのマルチプル・ローディング装置の略図である。

図1 4 Aから1 4 Fまでは、本発明のディスクのレーザー光作動式CD-ROM能力を示している。

図1 5は、本発明のプレーヤー／リーダー装置のプロセッサ制御構造の工程系統図である。

図1 6は、横断分光検出チャンバーの略図である。

図1 7 Aから1 7 Eまでは、DNAシーケンシングのために構成された本発明のディスクの種々の構造的及び機能的層の略図である。

図1 7 Fは、分析用ディスクのための基本領域及びデザインフォーマットの略図である。

図1 7 Gは、在宅検査診断用ディスクとして構成されたディスクの略図である。

図1 7 Hは、簡易免疫キャパシタンス・アッセイとして構成されたディスクの略図である。

図1 7 Iは、ガス用及び微粒子用ディスクとして構成されたディスクの略図である。

図17Jは、個別に組み立てられたチップを含んでいるハイブリッドディスクの略図である。

図17Kは、試料認定ディスクの略図である。

図17Lは、病理学的用途のために構成されたディスクの略図である。

図17Mは、リムーバブルのアッセイ層を備えたディスクの略図である。

図17Nは、エアロゾルをアッセイするためのディスクの略図である。

図17Oは、フローサイトメトリーのためのディスクの略図である。

図17Pは、顕微鏡検査用途のためのディスクの略図である。

図17Qは、免疫アッセイ用途のためのディスクの略図である。

図17Rは、薄層クロマトグラフィー用ディスクの略図である。

図18は、ヘマトクリット測定のために構成されたディスクの略図である。

図19は、血液成分のSPLITT分別のために構成されたディスクの略図である。

図20は、DNAメルトメーターとして構成されたディスクの略図である。

図21は、DNA増幅のために構成されたディスクの略図である。

図22は、DNAの自動制限酵素分解のために構成されたディスクの略図である。

図23は、DNA合成のために構成されたディスク・マイクロシステムの一部の略図である。

図23Bは、多数のDNAオリゴヌクレオチド合成のために構成されたディスクの略図である。

図24は、DNAシーケンシングのために構成されたディスクの略図である。

図25は、鉄アッセイのために構成されたディスクの

略図である。

図26は、固定相反応のために構成されたディスクの略図である。

図27は、試料抽出のために構成されたディスクの略図である。

図28は、毛管電気泳動のために構成されたディスクの略図である。

図28は、ゲル電気泳動のために構成されたディスクの略図である。

図29は、マイクロプラットホーム内の横断光路の略図である。

図30は、本発明の情報学を制御する際の工程の流れのブロック図である。

図31は、本発明の情報学制御のより詳細な略図である。

図32は、本発明の情報学制御のさらにより詳細な略図である。

#### 好ましい実施態様の詳細な説明

本発明は、生物学的検体、化学的検体、環境検体および産業検体の微小分析および微小合成アッセイを行うためのマイクロプラットホームおよび微小操作装置を提供する。本発明の目的において、「検体」という用語は、目的の任意の化学種または粒状種であって、単離されたもの、またはより複合的な混合物の成分として検出され

るもの、あるいは前駆体種からの合成されたものに言及するものと解される。本発明は、分析的／合成的微小体積アッセイプラットホームである回転可能なマイクロプラットホーム（集約的にここで「ディスク」と呼ぶ）、および回転の結果としてのプラットホーム上の求心力から生じるプラットホーム上での流動体移動を達成するようにプラットホームを操作するための微小操作装置の組み合わせを提供する。本発明のプラットホームは、円形ディスクであることが好ましくかつ有利であるが、プラットホーム上の流体に求心力を付与するように回転することのできる任意のプラットホームが本発明の範囲に含まれるものとする。

本発明のマイクロプラットホーム（好ましくはこれ以降、集約的に「ディスク」と呼び、本発明の目的において「マイクロプラットホーム」、「マイクロシステムプラットホーム」および「ディスク」は互換性ある用語である。）は、一または複数の微小合成または微小分析システムを含むように提供される。そのような微小合成または微小分析システムは、ディスクの回転時に成分の間を流体を流れさせるように機能的に相互接続される、ここにさらに詳細に記載する関連成分の組み合わせを含む。これらの成分は、以下に記載のように、ディスクと一体に、またはディスクに取り付けられ、置かれ、接触されまたは埋め込まれたモジュールとして組み立てることができる。本発明は、本発明のディスクを操作するた

めの

微小操作装置であって、ディスク上で流体を流れさせるための求心力を提供するように装置内でディスクが回転する装置も含む。従って、この装置は、ディスクを制御された回転速度で回転させ、ディスクの回転を停止および開始させ、およびディスクの回転方向を有利に変換させるための手段を提供する。ここにさらに詳細に記載するように、電気機械的手段および制御手段の両方が本発明の装置の成分として提供される。ユーザーインターフェース手段（例えば、キーパッドおよびディスプレイ）も提供される。

本発明は、目的の分析物を含む流体、細胞および／または粒子（ここで「検体」と総称する）からなる検体を操作するための方法および装置を提供する。本発明のプラットフォームは、検体入口ポート、流体流のためのマイクロチャネル、試薬貯蔵器、混合チャンバー、反応チャンバー、光学的読み取りチャンバー、成分間の流体流を制御するための弁、温度制御要素、分離溝、電気泳動溝および電極、空気出口ポート、検体出口ポート、生成物出口ポート；磁気、音波および機械的混合器を含む混合手段；バッテリーまたは電磁発電機のような機内電力供給源、液状および乾燥試薬、およびここに記載のまたは当業者に知られている他の成分を含むシステムからなる。検体の動きは、空気を移動させるが加速時の流体および／または粒子の損失は防止する空気穴または空気置き換え溝を巧みに組み込むことにより容易になる。好ましく

は、ディスクは、例えばプラスチック、シリカ、石英、金属またはセラミックからなるプラットフォーム上で微小組立機械的、光学的および流動的制御成分を組み込む。本発明の目的において、「微小組立」という用語は、ミリメートル未満規模でこれらの構造を製造させる方法を意味する。これらの方法は、限定はされないが、フォトリソグラフィ、エッチング、スタンピングおよび、当業者に良く知られた他の手段を含む。

流体（試薬、検体および他の液状成分を含む）の移動は、プラットフォームの回転による求心的加速により、およびプラットフォームのマイクロシステムの成分間

の接続を制御する弁の選択的活性化により制御される。特別のマイクロシステムのために適当な速度および圧力下に流体を流れさせるのに必要な求心加速の程度は、プラットフォームの有効半径、プラットフォーム上の構造物の回転方向に対する位置角度、およびプラットフォームの回転速度を含む因子により決められるが、これらに限定されるわけではない。

化学的および生化学的反応は、隣接試薬貯蔵器への出入りを制御するマイクロ弁を選択的に開くことにより反応チャンバー内で行われる。以下により詳細に説明するマイクロ弁は機械弁、電気弁および熱弁機構、および流体流が毛細管吸引力と流体に作用している求心力との関係により制御される毛細管マイクロ弁を含む。そのようなマイクロ弁により制御されるマイクロチャネルを通し

て反応チャンバーに接続される試薬貯蔵器の内容物は、調和して行われるマイクロプラットフォームの回転と適当なマイクロ弁の開放とにより反応チャンバーに送られる。反応チャンバーに送られる試薬の量は、回転の速度、および試薬貯蔵器への弁が開放している時間により制御される。反応チャンバー内で行われる反応の生成物は、同様に、反応チャンバー内のマイクロ弁を制御して開放することにより反応チャンバーから除去され、分析用配列、第2の反応チャンバーまたは生成物出口ポートに送られる。

本発明のマイクロプラットフォームの分析配列構成成分は、反応経路、生成物または副産物を検出、モニター、定量または分析するための検出システムを含む。本発明のマイクロプラットフォームのこの組み立ておよび用途において有用な検出システムは、限定はされないが、蛍光、化学的蛍光、熱量、電気化学的および放射活性検出手段を含む。要すれば、検出システムは、プラットフォームに一体化する、プラットフォームを操作する装置の成分を含む、またはその両方を行うことができる。

すなわち、本発明により提供されるマイクロプラットフォームおよび微小操作装置は、処理すべき分析的または合成的データを提供する。データ処理は、ディスク上のプロセッサまたはメモリーモジュールにより、装置マイクロプロセッサおよびメモリーにより、または微小操作装置に接続された外部コンピューター



により達成さ

れる。データ検索および貯蔵のための取り外し可能メディアが、ディスクそのもまたは装置により、コンピューターディスク、テープまたは光学メディアを用いて提供される。別法であり有利なものとして、CD読／書技術および従来の光学データ貯蔵システムを用いてマイクロプラットホーム上にデータが書かれる。そのような態様において、ここに開示の種々のマイクロシステム成分を保持する「湿潤」化学側と反対の、プラットホームの下側でマイクロプラットホームにデータが書かれる。

本発明のマイクロプラットホームの物理的直径は、広範囲に変化する。ディスクとして提供された場合、ディスク半径は1~25cm、ディスク厚さは0.1mm~10cm、より好ましくは0.1~100mmである。本発明のディスクの製造および操作のために最も有利な好ましい実施態様は、一またはそれ以上の予め存在するフォーマット内の寸法を有する：(1) 半径が約3.8cmで厚さが約1mmの3インチコンパクトディスク(CD)；(2) 半径が約6cmで厚さが約1mmの5インチコンパクトディスク；(3) 半径が10cmで厚さが2mmの8インチCDV（市場では「レーザービジョン」ディスクと呼ばれている）；および(4) 半径が15cmで厚さが2mmの12インチCDV。

マイクロチャネルおよび貯蔵部の寸法は、最適には、特定の用途により、および本発明の微小分析および微小合成方法の各特定態様に必要な試薬の量および試薬分配速度により決められる。微小分析用途において、例えば、

ディスク寸法は5インチCD(6cm×1mm)が好ましく、それにより試薬貯蔵器は0.5mL(ディスクにより置き換えられる実際の値に近い)まで含むことができる。マイクロチャネル寸法は、0.1mm~ディスクの厚さ1mm近くまでであり得る。マイクロチャネルおよび貯蔵部形状は、台形、円形または必要な他の幾何的形狀であり得る。マイクロチャネルは、好ましくは、厚さ約0.1~100mmのマイクロシステムプラットホーム中に埋め込まれ、プラットホームの厚さ寸法を交差するマイクロチャネルの断面寸法は500μmより小さく、プラットホームの前記断面寸法の1

～90%である。試薬貯蔵器、反応チャンバー、検出チャンバーならびに検体入口ポートおよび出口ポートは、厚さ約0.1～100mmのマイクロシステムプラットホーム中に埋め込まれ、プラットホームの厚さ寸法を交差するマイクロチャネルの断面寸法はプラットホームの前記断面寸法の1～75%である。

入口ポートおよび出口ポートは、種々の流体成分の除去の導入のために有用な本発明のマイクロプラットホームの成分である。入口ポートは、検体および試薬をディスク上に乗せるまたはディスク中に注入するために提供され、このタイプのポートは、通常、ディスクの中心に向かって配置される。出口は、空気を、有利にはディスク上の「マフラー」または「バッフル」系に逃げ込ませて、ディスク上で流体が抑制されることなく動くことを可能にするために設けられる。ディスク上の空気取り扱

いシステムには空気置き換え溝も含まれ、それにより、流体の動きが、流体含有マイクロチャネルに接続する溝を通して空気を流体の動きの方向に退行するように置き換えて、それにより正圧を提供して流体の動きをさらに活性化する。生成物をディスクから除去するために出口ポートも設けられる。ポートの形状および設計は、特定の用途に依存して変化する。例えば、検体入口ポートは、特に、毛细管作用により検体をディスク中に効率的に引きこむように設計される。さらに、ポートは、自動検体／試薬負荷または生成物除去を可能にするような形状にすることができる。入り口および出口ポートは、最も有利には配列して設けられ、それにより、特定に設計された投与ツールを用いて多用な検体がディスクに適用される。マイクロプラットホームから生成物を除去するように設計された類似のツールが有用である。検体ポート、換気装置、試薬貯蔵器、反応チャンバーおよびマイクロ弁の代表的配列を、図1A～1Cに示す。

種々のディスク成分および要素の機能的および最良の配置は、求心力に対する流体移動の力学に依存する。求心力は、プラットホームの半径、ディスクの回転速度および流体密度の関数である。本発明のマイクロシステムプラットホームに係わる特定の関数パラメーターは、以下の式により理解される。これらは、十分に広がった流体の流れについて粘性および非粘性（乱流）損失の両方を仮定して

いるので、システムの性能の限界を示してい

るはずである。

流体を動かすまたは流体の圧力を形成するための駆動力は、求心加速から得られる力である。装置は、角速度 $f$ （回転数／秒）および角周波数

$$\omega = 2\pi f \quad (1)$$

で回転し得る。

求心加速（均一回転ディスクの中心からの半径距離 $R$ で半径に沿って加速される）は

$$a_c = \omega^2 R \quad (2)$$

である。そのような均一回転動作における質量 $m$ には、回転中心の半径に沿って内側に向けられる求心力

$$F_c = ma_c = m\omega^2 R \quad (3)$$

が付与される。質量がこの半径に固定される場合、回転を起こしている装置がこの力を提供し、これが以下に記載する液体カラム中における静圧の起源である。

質量が、放射方向に配向された管の上方のトラップドアの上側に配され、トラップドアが開放される場合、質量の慣性力が管の加速を低下させ、このことが、回転ディスク上で流体を半径方向外側に駆動する理由となる。

回転が、非流動流体中に静圧を発生させる。流体のカラムが内側半径 $R_0$ から伸びることが仮定される。管は半径に沿うまたは所定の角度で半径から傾き得る。位置 $R_0$ における圧力を、例えば大気圧である $P_0$ と定義する。位置 $R_0$ から $R$ の密度 $\rho$ の液体についての単位面積当たりの求心力を積分することにより、 $R_0 < R$ となるような位置 $R$ にお

ける液体の回転のための過剰圧力が見られる。

$$P - P_0 = \int \rho a_c = \rho \omega^2 / 2 \times (R^2 - R_0^2) \quad (4)$$

中心から延びている管が満たされると、この圧力は

$$P - P_0 = (2.834 \times 10^{-4}) \rho f^2 R^2 \quad (5)$$

（平方インチ当たりのポンド（psi）、ここで $R$ は半径cm、 $\rho$ は密度gm/cm<sup>3</sup>、およ

び $f$ =周波数(回転数/秒)である)となる。すなわち、圧力(または流体にかかる求心力)は流体の密度、回転中心からの半径位置の二乗および回転周波数の二乗に比例して変化する。

回転ディスク上の溝中で動いている液体の速度を決めるために、流体の動作の式を解かなければならない。円形溝を満たしている半径 $a$ および長さ $dR$ の流体の要素は、加速される質量 $dm$ を有する。

$$dm = \pi \rho a^2 dR \quad (6)$$

この流体要素のための動作の式は、力=(質量)×(加速度)である。力は、求心力、流体と蒸気および流体と固体表面との間の界面エネルギーの相違に起因する毛細管吸引力、および液体の速度と流れの非均一性による拡散力である。毛細管吸引力は無視でき、求心力および/または外圧が、湿っていない溝中に液体を押し入れるためにかけられる必要があると理解される。これらの拡散力の過剰評価として、ニュートン流体(FL)の十分に広がった層流の力と非均一流(FD)による力の両方が含まれる。

$$F = ma$$

$$F_c + F_l + F_d = dma_r \quad (7)$$

$$F_c + F_l + F_d = (\rho \pi a^2 dR) a_r$$

ここで、 $a_r$ は、半径に沿った流体質量要素の加速度であり、

$$F_c = (\rho \pi a^2 dR) \omega^2 R$$

$$F_l = -(8\mu \pi a^2 dR) u \quad (8)$$

$$F_d = -(2\rho \pi a^2 dR) u^2$$

ここで、 $\mu$ は粘度であり、 $u$ は流体の半径方向速度である。これら後者の二つは、溝入り口/出口または流滴の端部におけるような、十分に広がったおよび完全に広がっていない層流の標準的機構を示している。半径 $F_c$ に関して角度 $\theta$ で傾斜した溝または管について、 $(F_c) \times \cos \theta$ と示されることも注目される。最終的式は以下のようになる。

$$(\rho \pi a^2 dR) \omega^2 R - (8\mu \pi dR) u - (2\rho \pi a^2 dR) = (\rho \pi a^2 dR) (du/dt) \quad (9)$$

ここで、流体の半径方向加速度は $a_r = (du/dt)$ で示される。これは、流体流速についての微分方程式である。

この式は、特定の例について解かれる。液滴より長い半径方向溝中で動いている長さ $L$ の流体の液滴を思い浮かべられたい。

液滴中の流体は全て同じ速度で動くので、 $dR$ を $L$ で置き換え、 $R$ を液滴の平均位置 $\langle R \rangle = (R+L/2)$ で置き換えてよい。

共通因子の割りだし：

$$(\omega^2 (R+L/2)/2) - (8\mu/\rho a^2)u - 2(u^2/L) = (du/dt) \quad (10)$$

この式は数値的に解かなければならない。数値解析との比較により補正された概算値が得られる。それは、左側端部の負の項が正の項をほとんど完全に消してしまうことからなる。そして、右側を0に設定し、 $R$ 、 $u_0$ における「終速度」について得られる式で解析を行うことができる。

$$(\omega^2 (R+L/2)/2) - (8\mu/\rho a^2)u_0 - 2(u_0^2/L) = 0 \quad (11)$$

これは4次式であり、以下のように解析される。

$$u_0 = - (B + \sqrt{B^2 + 4AC}) / 2A \quad (12)$$

ここで、

$$A = L/2$$

$$B = 8\mu/\rho a^2 \quad (13)$$

$$C = (\omega^2 (R+L/2)/2)$$

従来の装置において、これらは $A=2/L$ 、 $B=320\mu/\rho D^2$  および $C=(19.74)f(2R+L)$ で、 $u_0$  = 流体速度cm/秒； $L$ =液滴長cm； $\mu$  = 速度poise； $\rho$  = 流体密度gm/cm<sup>3</sup>； $D=2a$ =管直径cm；および $R$ =流体液滴の半径方向位置cm。既述したように、この式は、管状溝中の流体の液滴のおよその速度を与え、液滴長さとして得られる液滴の体積は、溝の長さより短い。この推定は、粘性および非粘性損失の両方を仮定する。流体液滴の速度は、密度および液滴体積（長さ）の増加とともに増加し、速度増加とともに低下する。



速度は、溝直径、回転速度および半径方向位置の増加とともに増加する。

位置 $R_0$ においてチャンパー全体に接続し位置 $R_1$ において貯蔵部を受ける満たされた溝中の流体速度は、式(11)において $L$ を定め、次に溝長さを式 $L=R_1-R_0$ により計算する。式(13)により定義される式(13)を用いて、半径の関数として満たされたチャンパー中での流体速度を計算する。

流体流速は、速度と溝面積の積である。

$$Q=u_0 \pi a^2 = u_0 \pi D^2 / 4 \quad (14)$$

ここで、 $Q$ =流速mL/sec ;  $u_0$  =速度cm/sec (式12および13から計算) ; および $D$ =管直径cmである。

体積 $V$ を、長さ $L$ の管または溝を通して、貯蔵部から受器に移動させるのに必要な時間は、 $V$ が管が満たされるような値(管中の体積 $V$ の「液滴」の長さは、管そのものよりも長い)であるか、 $V$ により満たされないかに依存する。前者の場合、この時間は、流体の体積 $V$ を流速 $Q$ で割った値であり、後者の場合、それは、ほぼ、この計算時間を、管長さと得られる液滴長さとの比で割った値である：

$$Dt=V/Q \quad L \leq (4V/\pi D^2) \text{ の場合} \quad (15)$$

$$Dt=(V/Q) \times (4\pi D^2 L/4V) \quad L > (V/\pi D^2) \text{ の場合}$$

ここで、 $Dt$ は、長さ $L$ および直径 $D$ cmの管を通して満たされた貯蔵部から受器へ流れるために、速度 $Q$ mL/秒で流れる体積 $V$ mLの流体についてのものと同じ時間(秒)である。流速 $Q$ は式(14)および拡張式(12)および(13)に

より、式(13)のパラメーターの定義において計算される。時間 $Dt$ は、輸送される体積の増加とともに増加し、流速の増加とともに低下する。

圧力および速度のような流体特性は、前述のように、ディスク半径および回転速度のようなディスクの物理的パラメーターに関する。これらの関係を、室温の水について、 $p=1\text{gm/cm}^3$  および $\mu=0.001\text{poise}$ で前記式により誘導された図2~5に示す。

図2Aは、変形距離( $R$ )の関数としての長さ30cmの流体充填管内の静圧と、式5から計算された回転速度( $f$ )との関係を示す。回転ディスク上の管の配列を、図2Bに示す。0~10,000psiの圧力が、0~10,000rpmの回転速度で管内に発生し

得ることが理解できる。この大きさの圧力が、従来より、例えば、高圧液体クロマトグラフィー (HPLC) を行うために使用されている。

図3Aは、式12および13から計算される、直径1mmの30cmの長い空の管内を動いている1, 10および100 $\mu$ Lの液滴の放射方向速度を示している。この管はディスクの半径に沿って中心から延び、ディスクは100, 1,000または10,000rpmで回転する。回転ディスク上での管の配置を図3Bに示す。これらの速度を用いて、流体液滴の移動時間を計算することができる。例えば、1 $\mu$ Lの液滴が、1,000rpmで回転しているディスクの中心から2cmの位置にある場合、約20cm/secの速度で流れる。従って、1cmの管を流通する時間は、約0.05秒と計算する得る。(回転方向に45

°の角度で非半径方向に配向された管について、速度は30%低下する。)

図4Aは、異なる直径の5cm流体充填管中の流速を示す。管を、それぞれ、回転しているディスク上に置き、図4Bに示すように、二つの半径方向に配向された貯蔵部を接続する。式14によれば、流速は、管の半径方向位置(この実施例では2~30cmに変化)、管直径(10 $\mu$ m, 100 $\mu$ m, 1,000 $\mu$ m)および回転周波数(100, 1,000または10,000rpm)の関数である。(前述のように、45°の非半径方向配向の管において、速度低下は30%である。)。図3Aに示す液滴速度を、式3により計算し、流速を式4を用いて決めた。

図5A, 5Bおよび5Cにおいて、5cmの管を通して1, 10および100 $\mu$ Lの液滴をそれぞれ輸送するために必要な時間を示す。管は、図5Dに示すように、二つの半径方向に配向された貯蔵部を接続する。輸送時間は、管の半径方向の位置(0~30cm)、管の直径(10 $\mu$ m, 100 $\mu$ mまたは1,000 $\mu$ m)および回転周波数(100, 1,000または10,000rpm)の関数である。図5A, 5Bおよび5Cに示す曲線は、式15を用いて計算した。

併せてみると、これらの式およびグラフは、ディスク半径と、回転速度、溝長さおよび直径、ならびに、流体速度決定における速度および密度のような流体特性、およびディスク上での流速との関係を示している。これらの変化を支持する仮定は、管の入り口および出口ポート

において液滴の非均一流による損失を付加した、Poiseuille（非乱流）流による粘度損失を含む。これらの式およびグラフは、速度および流速の低い制限を提供する。流体速度は、1cm/sec以下から1,000cm/sec以上に変化し、流体流速は回転速度1~30,000rpmにおいて1pL/sec以下から数十mL/secに変化し得る。溝の直径とディスク上の位置とを組み合わせることにより、流体輸送を、種々の方法において、ミリ秒~数時間および数十時間の広範囲の時間で行うことができる。

#### ディスク被覆および組成

ディスクのようなマイクロプラットホームおよびそのようなプラットホームを含む組成物が、ここに開示の広範囲の用途中の特定の用途に適当な種々の組成および表面被覆を有するように、有利に提供される。ディスク組成は、構造的必要因子、製造方法、および試薬適合性／化学的抵抗特性の関数である。特に、無機結晶性または非結晶性材料、例えば、珪素、シリカ、石英、金属から、またはプラスチックのような有機材料、例えばポリ（メチルメタクリレート）（PMMA）、アセトニトリルブタジエンスチレン（ABS）、ポリカーボネート、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリオレフィン、ポリプロピレンおよびメタロセンからなるディスクが提供される。これらは、以下に記載するように非変性または変性表面と一緒に用いることができる。

本発明のマイクロシステムディスクの組み立てにおける一つの重要な構造的考察は、使用中の応力による機械的欠陥である。高速で回転しているディスクの欠陥機構は、Hertzberg著(1989年, Deformation and Fracture of Engineering Materials, 第3版, Wiley & Sons: New York)に記載されているように、引張負荷の結果として、またはクラッキングもしくは異常発生により発生し得る破壊を含む。これらの欠陥は、ディスクの回転による応力（単位面積当たりの負荷と定義される）が、ディスクを作るために用いられる材料に特徴的な臨界値を超えたときに生じる。ディスク中の任意の点における「負荷」は、例えば、ディスク上の所定の半径における回転による引張力であり、全負荷は、より大きな半径の材料を円形に動いているように維持するために必要な求心力であり、負荷／面積すなわち応力は、ディスクの合計面積（ $2\pi r \times$  ディスクの厚さ）により割られるこの力

である。材料に欠陥が生じる応力の臨界値は、降伏値と呼ばれ、それは、材料と一緒に維持する粘着力および材料中の欠陥（珪素またはプラスチック基質材料中の結晶性欠陥のような）の存在に依存する。欠陥のない材料を分離することができるが、小さい欠陥がクラッキングまたは「異常形成 (crazing)」(例えば、プラスチック変形および最初にガラス状のプラスチックの欠陥)により多発する。例えば、市販珪素の降伏強度は、内側溝およびチャンバーの直径がディスクの合計厚さの約80%より小さいとき、

30cmディスクを機械的欠陥なく10,000rpmで回転することを許容する。プラスチック製のディスクにおいて、ディスク上の応力は、通常、プラスチックの低密度（負荷／単に面積を低下させる）により低下される。しかしながら、降伏強度は、珪素よりも約二桁小さい(Luis & Yannis著, Computational Modeling of Polymers, (Bureitz, ed.), Marcel Dekker: New Yorkにより詳細に説明されている。)。この問題の一つの解決法が、30cmプラスチックディスクをより低速度（例えば1,000rpm）で回転させるか、ディスク半径の寸法を増加させる（例えば、10,000rpmの回転速度が必要な用途について4cmプラスチックディスクを使用する）ことにより提供される。すなわち、ディスク機能特性および特徴にディスクの組成に関する拘束を付与するには、特定の用途のための特異的な材料の選択で充分である。

流体と接触するディスク材料も、加熱および冷却時における、回転応力を受けている試薬溶液（例えば、アセトニトリル、ポリアクリルアミド、高いまたは低いpHの緩衝液）による劣化、および高強度紫外線または可視光線による照射（特に、以下に記載の特定の検出手段を用いた場合に発生する）に対して抵抗性を示さなくてはならない。さらに、試薬および反応混合物（例えば、マイクロチャンネル、貯蔵部および反応チャンバー）にさらされた表面は、各用途に適当な望ましい表面特性を有さなくてはならない。珪素、シリカおよび石英が、マイクロ

プラットフォーム組み立ての材料として特に好ましい材料である。珪素およびその酸化物（本質的にシリカ）は、一部の過酸化物（例えば、過酸化水素と硫酸との



混合物)、水酸化物(例えば、KOH)、フッ化水素酸(HF)を単独またはアルカリ系硝酸塩と組み合わせて、および種々の過フッ素化溶媒(例えば、 $\text{SF}_6$ )によってのみ化学的に攻撃される(Iler, 1979年, The Chemistry of Silica, Wiley & Sons: New York; Properties of Silicon, X版, INSPEC:, London, 1988年を参照)。珪素系材料は、脂肪族および芳香族炭化水素(例えば、テトラヒドロフラン、トルエンなど)に化学的に不活性であり、水および中性水溶液に晒したときに実質的に不活性である。

本発明のマイクロシステムプラットフォームを組み立てるために種々のポリマー系(プラスチック)材料が好適である。最も化学的抵抗性のポリマーであるポリ(テトラフルオロエチレン)(PTFE)は、溶融加工することができないが、容易に機械加工できる。PTFEは、実質的に化学的に不活性であり、強い酸、塩基、アルカリ、ハロゲン化溶媒、または他の強い化学試薬を利用して大部分の用途に用いることができる。他のフルオロポリマー(例えば、FEP、PFA)は、PTFEよりもより容易に加工され、PTFEの化学的抵抗性の大部分を維持する。より容易に加工される材料を選択的抵抗性を有するように選択することができる: 例えば、ポリイミドは、アルコール、アルカリ、脂肪族炭化水素および塩基(例えば、NaOH)に高度に抵

抗性を示すが、その部分的ハロゲン化溶媒(例えば、ジクロロベンゼン)に対する抵抗性は劣る。ポリ(塩化ビニル)は、酸化性酸および脂肪族炭化水素に強い抵抗性を示すが、芳香族化合物に対する抵抗性は弱い。さらに、特定の化学物質の濃厚材料に高度の抵抗性を示さない多くの材料は、希溶液には十分な抵抗性を示す、または単一使用装置に十分な抵抗性を示す(例えば、ポリアミドおよびポリイミドを、酢酸および塩酸のような特定の酸の希薄溶液と一緒に用いることができる)。

特定の化学物質/ポリマー組み合わせは、ホルムアミド、ルチジン、およびアセトニトリルと非芳香族、非極性ポリマー(ポリプロピレン、ポリエチレン); ジクロロメタンとポリマーボネートおよび芳香族ポリマー(ポリスチレン); エタノールアミンおよびジメチルスルホキシドと脂肪族および非芳香族ポリマー(



ポリ(メチルメタクリレート)、ポリイミド、ポリアミド)を含む。フルオロポリマーは、前記化学試薬の全てに抵抗性を示す。ピリジン、テトラゾール、トリクロロ酢酸、ヨウ素、無水酢酸、N-メチルピロリジン、N,N-ジエチルプロピルエチルアミンおよびピペリジンを含む目的の他の溶媒および試薬は、フルオロポリマーおよび一部の溶媒抵抗性ポリマー、例えばPVCと一緒に用いるのに適している(Encyclopedia of Polymer Science and Technology, 第2版., 第3巻, 421頁~430頁, Xed., John & Sons: New York, 1989年)。

そのような材料の一部の少ない組み合わせは、実質的にいかなる用途にも十分な柔軟性を示す。

これらの材料の表面特性は、特定の用途のために修正することができる。例えば、適当な表面変性は、細胞および/またはタンパク吸収を促進または抑制することができる。表面変性は、シラン化、イオン植付、および不活性気体プラズマ(例えば、電気が通過してイオン化する気体)により達成することができる。水接触角と細胞吸着との間に強力な関係が達成され、親水性表面は、疎水性表面よりもかなり低い細胞吸着性を示す(Ikada, 1994年, Biomaterials 第15巻: 725頁参照)。珪素、シリカおよび石英は、固有の高エネルギー親水性表面を呈する。表面特定の変更は、水酸化(高温でのNaOH処理により達成される)またはシラン化により達成される。シランおよびシロキサンが、さもないと疎水性表面の親水性を増加させるのに特に適している。これらの化合物は、基材、例えばアルカンのコア領域( $-\text{CH}_2\text{O}-$ )に結合(化学的または水素結合により)する一つまたは幾つかの反応性頭基からなる。これらの化合物は、表面特性のより大きな変化(目的の表面特性を得るための官能基による変化)のための経路も提供する。種々のそのような官能基を、ビニル、フェニル、メチレンおよびメトキシ基を含む表面、および混合官能基を提供する表面に導入することができる。これらの官能基は、液体接触角のような全体の特性を変化させるのみならず、分子の選択的吸着の

部位も、それ自体として又はペプチド、抗体等のような特異的結合基をさらに組み合わせる結果として提供する。シラン化は、僅かに高い温度で水溶液に浸漬す

ることにより達成されることが多い。シランおよびシロキサン被膜の化学的抵抗性は、化学的吸着分子内における結合の性質により決められる (Arkles, 1977年, Chemtech第7巻: 125頁)。そのような疎水性の特定が、有機シランを腐食性の強い酸と接触させた場合に、かなりの期間維持され、それは、これらの環境中において単一使用または限定的使用が可能であることを示していることに注目すべきである。

プラスチック系ディスクは、必要な表面特性を達成するように容易に処理することもできる。表面複合体、例えば、親水性増加のための水酸基富含表面、または疎水性増加のための過フッ素化表面を形成することにより表面エネルギーを変えるために不活性気体または反応性気体プラズマが、一般的に使用される。表面グラフト重合は、所望の表面特性を有するポリマーまたはオリゴマーを、プラスチックのような、大規模加工性および製造特性のために選択される基質ポリマーにグラフトさせるために用いられる技術である。グラフト重合を開始するための市場での方法は、 $\gamma$ 線照射、レーザー照射、熱または機械的加工、光化学的加工、プラズマ、および湿潤化学的加工を含む (さらには、Encyclopedia of Polymer Science and Technology, 第2版., (Supplement), Wiley

& Sons: New York, 1989年, 675頁～689頁に記載されている。)。ポリマー表面 (適当なポリマー) の化学的変性は、酸化 (ポリエチレン)、還元 (フルオロポリマー)、スルホン化、脱水素ハロゲン化 (ポリ (ビニリデンフルオライド) の脱水素フッ素化)、および加水分解を含む。表面の化学的性質は化学的変性により変化されるが、機械的特性、耐久性および化学的抵抗性は主に基質プラスチックの機能である。例えば、ポリエチレン上へのポリ (エチレングリコール) の表面グラフト化により、親水性である (ポリエチレンとは異なり) と共に水に抵抗性である (PEGはそれ自体水に可溶性であるが、ポリエチレンは可溶性でない) 表面を提供する。最後に、種々の表面エネルギー/化学物質組み合わせを行えば、有機ポリマー表面のシリル化を行うこともできる。

薄いフィルムディスクを含む態様が提供され、固体支持材上に積み重ねられたマイクロシステムディスクの「層」を含むものが、ディスクを保存すると共に、

消費し得るものとしてディスクを含むマイクロシステムを効果的かつ廉価に用いる連続アッセイに有用である。そのようなディスクの図17Lに図示する。そのようなディスクは、例えば、ディスク上にバーコードを印字することにより独自に確認することができる。

種々の用途のために組み立てられたディスクの特別の例を、以下の実施例に示す。

#### ディスク関連装置および要素

本発明のマイクロシステムプラットフォーム（マイクロプラットフォーム）に、複数の機内成分を、ディスク上に直接組み立てる、または予め組み立てられたモジュールとしてディスク上に置くことにより設ける。ディスクの一体成分に加えて、特定の装置および要素をディスクの外側に配置する、要すれば、本発明の装置上に配置、またはディスクと接触させて置くことができる。

##### 1. 温度制御要素

温度制御要素、特に、加熱要素は、加熱ランプ、直接レーザーヒーター、ペルチエ加熱ポンプ、抵抗ヒーター、超音波ヒーターおよびマイクロ波加振ヒーターを含む。冷却要素は、ペルチエ装置、および吸熱器、放射性ヒートフィン、および放射性熱損失を容易化するために他の成分を含む。熱装置は、ディスクに全体的にまたはディスクの特定領域に適用することができる。熱要素は、ディスク上に直接組み立てる、または独立して組み立てディスク上に一体化することができる。熱要素は、ディスクの外側に配置することもできる。ディスク上の任意の特定の領域の温度は、抵抗温度装置（RTD）、サーミスター、液体結晶複屈折センサーまたはIR-特異性検出器を用いて赤外線呼掛によりモニターされる。ディスクの任意の特定の領域における温度は、フィードバック制御システムにより制御することができる。微小規模熱制御システムは、ディスク上に直接組み立てる、微小チップ上で

組み立てディスクに一体化する、またはディスクの外側に配置されたシステムにより制御することができる。

## 2. フィルター

本発明の微小分析または微小合成ディスクに適用される細胞、細胞凝集物、タンパク凝集物または他の粒状材料を含む粒状材料の通過を選択的に維持または容易化するフィルター、篩構造、および他の手段。そのような濾過手段は、ディスク上の流体取り扱い構造中に直接組み立てられる(e.g., 米国特許No. 5, 304, 487; 国際出願公開No. W093/22053; Wildingら., 1994年, Automat. Analyt. Tech. 第40巻: 43頁~47頁)、または別途組み立てられ流体取り扱い構造中に一体化される微小篩構造を含む。この篩構造は、一定範囲の絞りオリフィスが設けられ、要すれば、検体の構成部分の寸法を基準に検体を分割するように連続的に配される。

他のタイプのフィルターは、フィルター材料と検体構成成分との間の静電力を基準に検体構成成分を選択的に除去する材料を含む。篩材料の静電組成物は、材料に固有である、または、電気回路を通して材料に送達される電荷により付与され得る。フィルター材料により捕捉された材料は、不可逆的に結合または、緩衝液の組成およびイオン強度を調節することにより、または、電氣的制御材料の場合、材料の電子状態を修正することにより選択的に溶出して更なる処理に付することができる。

### 本発明のマイクロシステムプラットフォームのフィルター

一のさらに別の態様において、検体の特性成分を、ディスクの成分の表面中に保持されるように誘導された特定のタンパク、ペプチド、抗体またはフラグメントとの相互作用により、本発明のディスクの所定のセクション、マイクロチャネルまたは貯蔵部に保持することができる。そのような特定の結合により捕捉された材料は、免疫学的またはクロマトグラフィー技術のために開発された従来の方法を用いて適当に選択されたイオン強度緩衝液で処理することにより、ディスクの表面から溶出し、収集貯蔵部に送ることができる。

本発明は、マイクロチャネルのセクションによりまたは、チャンバーの入り口および出口ポートが濾過装置により定められるチャンバーまたは貯蔵部により定められるコンパートメントも提供する。特定の態様において、このように定められたチャンバーは、ビーズ、および特に、最終生成物において不必要な汚染物、



未使用試薬、反応副産物または他の化合物と親和性を有する抗体のような化合物で被覆したビーズのような試薬を含む。そのようなフィルター制限チャンバーを含むディスクの使用において、必要な化合物と不必要な化合物との混合物を含む流体を、回転しているディスクの求心力により濾過チャンバーを通して除去する。すなわち、不必要な化合物は、親和性材料により結合され、所望の化合物は、求心力により動かされる流体流によりチャンバーから洗い出される。また、所望の化合物は、そのようなフィルタ

ー制限チャンバー中に保持し、不必要な化合物を洗い出すことができる。これらの態様において、例えば弁を開くことによる、チャンバーからの流出物が提供される。

### 3. 混合物

種々の混合要素が、試薬貯蔵器からの添加の際に反応チャンバー内で成分を混合することを必要とする本発明のマイクロシステムの態様中に有利に含まれる。静置混合物を、マイクロチャネルまたはミキサーを含むチャンバーに加工表面を適用することにより、ディスクの流体取り扱い構造に組み込むことができる。二つ以上の溝をディスク上の所定の位置で一緒にすることができ、それらの成分が、混合溝またはチャンバーの加工表面により付与された水力作用により、または回転ディスクにより付与された求心力の作用により一緒に混合される。混合は、回転方向を迅速に変えることにより、およびディスクの外側のシステムによりディスクを物理的に攪拌することによっても達成することができる。

別の態様において、柔軟プレート波 (FPW) 装置 (White 著, 1991 年, 米国特許 No. 5,006,749, 同書参照) を用いて、本発明のディスク上で流体を混合することができる。FPW 装置は、非常に薄い薄膜のいずれかの端部に配されたアルミニウムおよび圧電酸化亜鉛トランスジューサーを利用する。トランスジューサーは、薄膜に沿って広がる音波板波を発生および検出する。薄膜の硬さおよび単位面積当たりの質量が、板波の速度を決める。アンプに接続

すると、波は、音波速度に比例する遅延ライン振動を形成する。FPW 現象に基づ



く構造が、圧力、加速、有機化学物質蒸気、タンパクの吸着、液体の密度および速度の感知し、ならびに液体と一緒に混合するために用いられてきた。FPW装置は、ディスクに一体化する、または、ディスクに近接して配置してディスク上の特別の反応チャンバー内で流体成分の混合を行うことができる。

#### 4. 弁機構

ディスク上での流体の動きおよび移動の制御は、典型的には、成分間の流体の動きを許容または防止するような弁機構（マイクロ弁）の使用を含む。そのようなマイクロ弁の例は、Nakagawaら(1990年, Proc. IEEE Workshop of Micro Electro Mechanical Systems, Napa Valley, CA. 89頁)に記載されているように、二つのシリコンウエハの間に挟まれたガラス板を含む圧電アクチュエーターを含み、そのような弁の概略図を図6に示す。この態様において、下側ウエハおよびガラス板は、一つまたは二つの入り口およびそこにエッチングされた一つの出口溝を有する。上側ウエハは、円形中心台およびそれを囲む同心台を有することができる。圧電スタックのベースは、中心台の上に乗せ、その最上部は円形ブリッジにより同心台に接続することができる。SiO<sub>2</sub>/SiN<sub>4</sub> アーチ状構造の中心は、圧電素子に接続される。弁シートは、ニッケルまたは他の封止材料からなる。3方向態様において、流体は、中心入口ポートから、電圧のかかっていない出口

に動く。電圧がかけられると、圧電素子はアーチ中心を押し下げて端部を浮かせ、中心入り口を遮断し、流体を周縁部入り口から流出させる。別の方法である2方向態様において、電圧をかけていないときに流体が流れ、電圧をかけると拘束される。2方向弁のもう一つの態様において、流体は、電圧をかけていないときに拘束され、電圧をかけたときに流体が流される。これらの態様のいずれにおいても、圧電スタックは、回転平面に垂直、回転平面に斜め、または回転平面内に維持することができる。

もう一つの態様において、空気駆動マイクロ弁を用いて流体制御が行われ、制御の地点において持ち上がった弁シートを有する材料の一つの層に流体溝がエッチングされている（このタイプの弁の概略図を図7に示す）。もう一つの層において、好ましくはレーザーにより対応する穴が穿孔されて、十分に小さい直径の

穴が設けられ、それにより、空気出入りが提供される。その第2の構造上に、シリコーンゴムまたは他の柔軟性材料の層が回転により堆積される。次にこれらの構造を一緒にする。流体動作は、柔軟薄膜を持ち上がった弁シート上に押し下げる空気圧の適用により遮断される。このタイプの弁が、Veiderら著(1995年, Euro sensors IX, pp. 284頁~286頁, Stockholm, Sweden, June 25~29)に記載されている。Velderらによる測定は、流体入り口圧力を超える30Kpaの圧力を適用して同様の弁を完全に閉じることを示した。この

弁は207psigに相当し、空気オリフィスの直径および薄膜層の厚さを変化させることにより調製することができる。図8に概略的に示すように、空気圧力をディスクにかけてそのような弁を作動させる。

空気作動は、図9に示すように、バイメタル作動機構を利用する微小加工気体弁により行うこともできる。弁は、弁本体に組み合わさるダイヤフラムアクチュエーターを含んでなる。アクチュエーターは、電圧をかけたときに加熱して、ダイヤフラムに歪みを生じさせる一体抵抗要素を含み得る。この歪みは、アクチュエーターの中心構造を弁の開放に作用させ、これにより開放部を通る流体の流れを制御する。これらの弁により、典型的にはDC電力0~15Vの入力に基づき比例的制御を行う。これらのタイプの弁は、市販されている(Redwood Microsystems, Menlo Park, CA; ICSensors, Milpitas, CA)。

空気で作動する薄膜弁の態様は、単一ディスク上での両成分の一体化を含む、または一つのディスクの空気出口が第2のディスクと並んで他のディスクのオリフィスになる空気作動を起こさせるように配列された二つのディスクを含むことができる。いずれの態様において、空気圧力の発生源を、テフロン(r)のような材料の同心環を介してディスクに送達することができる。この態様において、直立コアおよび回転要素がディスクにつながっている。空気圧が、直立コアの内側を通過して送られ、溝により直立コアの外側端部に導かれる。適当に配置された

溝を、加工して回転要素にし、直立コア中の溝に作用して空気圧を気体弁に導く。

もう一つの弁の態様は、図10に示す圧力均衡マイクロ弁である。このタイプの弁は、材料の三つの層から構成され、珪素の二つの層が電氣的絶縁酸化物（例えば、二酸化珪素）の薄い層により分離されている。ガラス層が、弁の最上部に結合され、有利に、入り口および出口ポートを含む。最も中心の珪素層中に入れられた中心プランジャーが、珪素層間に電圧をかけることにより下側珪素層に含まれるギャップ中に歪み入れられる。また、プランジャーは、空気圧を低下させることにより、下側層のギャップに歪み入れられる。微小加工部分の不可逆混乱は、Cr/Ptの薄い層をガラス構造にすることにより防止される。静電的に駆動される装置として、このタイプの弁は、ディスクの組み立てにおいて直接配線されることを含む多くの不利益を有している。この態様において、アクチュエーターは、比較的高圧においても弁を開くのに最少の入力エネルギーしか必要としない高度に調節された装置である。これらのタイプの弁が、Huffら(1994年, 第7 International Conference on Solid-State Sensors and Actuators, pp. 98~101)により開示されている。

別のタイプの単一使用弁、すなわちポリマー緩和弁は、通常、ディスクおよび流動装置と適合性があり、ここで開示されると共に図11に示される。この弁は、非平衡ポリマー構造の緩和に基づく。この現象は、ガラス転移

温度 ( $T_g$ ) より低い温度でポリマーが引き伸ばされたときに観察され、それにより非平衡構造が得られる。 $T_g$ を上回って加熱したとき、ポリマー鎖は緩和し、構造が平衡するときには収縮が観察される。この現象の共通の例は、ポリオレフィン（熱収縮管形成または包装に用いられる）の収縮であり、このポリオレフィン構造は室温で安定である。しかしながら、 $135^{\circ}\text{C}$ に加熱すると、構造は収縮する。PR弁ポリマーの例は、限定はされないが、ポリオレフィン、ポリスチレン、ポリウレタン、ポリ（ビニルクロライド）および特定のフルオロポリマーを含む。

PR弁を製造する一つの方法は、ポリマーシートまたはラミネートを弁を必要としている溝の上に置くことである（図11に示す）。次に、円筒形弁を、マイクロチャンネルを遮断するように冷間スタンプする。弁を、例えば、レーザーまたは抵抗性加熱要素との接触により局在熱を適用することにより作動させる。次に、弁

を収縮し、流体流を不能にする。

本発明のディスクにおいて有用な更なるタイプのマイクロ弁は、単一使用弁であり、ここでは毛細管マイクロ弁（1996年8月に出願された米国分割出願No. 60/000000に開示されており、それをここで参考に取りこむ）により示される。このタイプのマイクロ弁は、毛細管吸引力を克服するための回転誘発流体圧の使用に基づく。それを含むマイクロチャネル（または、貯蔵部、反応溝、検出溝など）の材料を完全にまたは部分的に湿潤させる

流体は、狭い断面のマイクロチャネルから一つの大きな断面に動くときに、流れに対する抵抗を示し、これらの材料を湿潤させない流体は、大きな断面のマイクロチャネル（または、貯蔵部、反応溝、検出溝など）から小さな断面の溝への流れに抵抗する。この毛細管圧力は、二つのマイクロチャネル（または、貯蔵部、反応溝、検出溝など）の寸法、流体の表面張力、およびマイクロチャネル（または、貯蔵部、反応溝、検出溝など）の材料上での流体の接触角度と反対に変化する。通常、断面形状の詳細は重要でないが、断面寸法への依存により、 $500\mu\text{m}$ より小さな寸法のマイクロチャネルが大きな毛細管圧力を示すことになる。本発明のマイクロシステムプラットフォームの成分の交差形状、材料、および断面積を変化させることにより、流体流動を引き起こすために特定の圧力を流体にかけることを必要とするように「弁」が構成される。この圧力は、本発明のディスク中において、ディスク（回転周波数の二乗、半径方向位置、および半径方向の流体の程度により変化することが先に示されている）の回転によりかけられる。毛細管弁断面寸法および、本発明のマイクロシステムプラットフォームの流体取り扱い成分の半径方向に沿った位置および程度を変化させることにより、100rpm～数1000rpmの回転速度を用いて、回転に依存するように流体流を放出するように毛細管弁を形成する。この配置により、予め決められた回転速度の単調増加を用いて、複合的な複数段階流動工程を行うこ

とができる。

本発明により提供されるディスクのマイクロ弁の制御は、ディスク上コントロ



ーラー要素、装置特異的コントローラー、またはこれらを組み合わせて用いることにより達成される。

## 6. 制御システム

マイクロプロセッサおよびI/O装置を含む一体電子加工システム（「コントローラー」と総称する）は、ディスク上に直接組み立てる、別途組み立ててからディスク上に一体化する、または完全にディスク以外に置くことができ、微小操作装置の成分とするのが最も有利である。コントローラーは、回転駆動モータ（速度、時間および方向）、システムの温度、光学システム、データの収集、分析および貯蔵を制御するため、およびディスクに一体のシステムの状態をモニターするために用いることができる。回転コントローラーの例は、回転速度を決めるためにそれ自体に隣接する回転センサー、そのようなモータの駆動方向および速度のためのモーターコントローラチップ（例えば、Motorola MC33035）を用いるコントローラーである。そのようなセンサーおよびチップは、通常、ディスクの回転を回転設定点に制御するためのセンサーデータを用いて、閉鎖環形状で用いられる。同様に、これらセンサーからの回転データは、周波数-電圧転化チップ(e.g., Texan Instruments Model LM2917)を用いて、パルスのデジタル配列からアナログ電

圧に変換することができる。この場合、アナログ信号は、フィードバックを提供して、所望の回転速度に対応するアナログ電圧設定点を制御する。コントローラーは、市販のコンパクトディスク（CD）プレーヤーにおいて用いられるのに類似の方法で、ディスクデータ搬送表面において符号化されたデータを用いることもできる。これらの態様において、レーザーにより読まれるデジタルデータが使用されて、位相ロックループにより回転速度が制御される。読まれたデータビットの周波数に固有の回転速度情報を、前述したように、アナログ電圧に転化することができる。

コントローラーは、離れたデータ移動のために外部データベースおよびモデムにアクセスさせるコミュニケーション成分も含むことができる。特に、コントローラーは、ディスク上に含まれる情報を読み出し、かつ、ディスクに一体の光学



的データ貯蔵セクションに、ディスク上の分析システムにより発生した情報を書きこむために光学読み出しシステムに一体化することができる。これらの態様において、ここに開示のマイクロシステム成分を含む表面と反対側のディスクの表面において読む機能と書く機能との両方が行われるものと理解される。

ディスク上の任意の特定微小分析システムの制御を行うための情報（例えば、指示とデータの両方、集約的に「情報科学」と呼ぶ）を、ディスクそのものまたは外部に所蔵することができ、最も有利には、本発明のディス

ク装置のマイクロプロセッサおよび／またはメモリーにより、または装置に接続されたコンピュータ内に貯蔵することができる。この情報は、ディスク上のマイクロ弁の開放／閉鎖状態およびタイミングを制御する、最適ディスク回転速度を決める、ディスク上の加熱および冷却要素を制御する、検出システムをモニターする、ディスクにより発生されたデータを一体化する、および収集したデータに基づきロジック構造を実行するためにコントローラーにより用いられる。

#### 7. エネルギー供給

ディスク上に含まれるシステムの電氣的要求は、ディスクに一体の接続部に接触するブラシを通してディスクに送られる。また、マイクロプラットホームと、ディスクを回転駆動手段に接続する回転スピンドルまたはハブとの間の接触点を通して電氣的接続をつくることができる。バッテリーをディスクに一体化して機内電気供給を提供することができる。ディスクを処理するために用いられる装置にエネルギーを与えるためにバッテリーを用いることもできる。本発明で用いられるバッテリーは、カドミウムまたはリチウムイオン電池、あるいは従来の鉛-酸またはアルカリ電池のような再充電可能なものであり得る。

ディスクに付与されるエネルギーは、ACまたはDCであり得る。電氣的要求は、ディスクに実行される特別のアッセイシステムにより決められ、電圧はマイクロVからメ

ガVまで、より好ましくはミリVからキロVまで変化することができる。電流は数マイクロアンペアから数アンペアの範囲とし得る。電気供給は、成分操作のため

、またはディスク上電子材料を制御および誘導するために用いることができる。

また、その回転故にディスク上に誘導電流を発生させることができ、電流は誘導ループまたは電気ブラシにより提供される。そのような電流を用いて、ディスク上の装置にエネルギー供給することができる。

#### 8. 検出器およびセンサー

本発明のマイクロシステムプラットフォーム上で用いるための検出システムは、分光的、電気化学的、物理的、光拡散性、放射性および質量分光分析検出器を含む。これらの検出器を用いる分光分析法は、電子分光分析（紫外線および可視光線吸収、蛍光および屈折計数）、振動分光分析（IRおよびラマン）、x線分光分析（NASA Jet Propulsion Lab, Pasadena CAにより開発されたもののような微小加工電界放射器を用いるx線蛍光および従来のx線分析）を含む。

本発明のマイクロシステムプラットフォームと一緒に用いるための一般的検出用の代表的例を以下に記載する。これらはセンタータ입（光システムおよび電気化学的）を基準とする。さらに、本発明の検出器を利用する検出実行システムは、プラットフォームの外部、プラットフォームに隣接またはプラットフォームに一体に設けることがで

きる。

##### a. 分光分析法

###### 1. 蛍光

巨視的用途のために開発された蛍光検出器システムは、従来技術において知られており、本発明のマイクロシステムプラットフォームと一緒に用いるように適合される。図12Aおよび12Bは、二つの代表的蛍光構造体を示す。図12Aにおいて、レーザーのような励起源が、ディスクの光学的に透過性のセクションに集中される。電磁スペクトルの任意の分析的に有用な部分からの光を、特定波長の光に特異的に透過性のディスク材料と組み合わせて、光の分光特性を、光の照射により呼び掛けられる貯蔵部を占める生成物または試薬により決めさせる。また、特定の波長における光の選択を、照射光の全内部反射となる幾何形状および屈折率特性を有する材料と組み合わせることができる。これにより、消滅性発光によりデ

ディスクの表面における材料の検出、または、検体そのものによる複数の反射を可能とし、それにより経路長がかなり長くなる。

消滅性波システムに適当な構造を図12A(Glassら., 1987年, Appl. Optics. 第26巻 : 2181頁~2187頁参照)に示す。蛍光をディスク上の波ガイドに併せ戻して、検出の効率を向上させる。これらの態様において、検出器に先立つ光学的成分は分光解析を可能にする分散性要素を含み得る。蛍光励起は、ノイズの大きさが信号と同じ方法によ

る経路長と同じでない場合は、装置内において表面から複反射により増加させることもできる。

もう一つのタイプの蛍光検出構造が図12Bに示される。蛍光励起波長と発光波長の両方の光が、装置の一つの表面を通して導かれる。励起および集合光学配列を分離するために $90^\circ$ の角度が用いられる。 $0^\circ$ を含む他の角度を用いることもでき、それにより励起および発光経路が同一線上となる。発光源が蛍光信号から識別し得るなら、任意の光学的幾何的手法を用いることができる。分光分析測定に適当であり使用される波長に透過性である光学的範囲がディスク上の適当な位置(すなわち、検出チャンバーの「読み取り」貯蔵部態様)に含まれる。このタイプの蛍光を巨視的系において用いることがHaabら(1995年, Anal. Chem. 第67巻 : 3253頁~3260頁)により開示されている。

## 2. 吸収検出

特異的にエネルギーを吸収(直接吸収)させることにより、またはシステムにおいても一つの成分の吸収を変化(関節吸収)させることにより透過光の強度を変化させる任意の分析物を検出するために、吸収測定を用いることができる。照射検体からの透過光の最大量を受ける光経路に吸収検出が集中するのを確実にするように光学的経路幾何形状を設計する。光源と検出器との両方を、ディスクの外部、ディスクに隣接して同調して動かし、またはディスクと一体に配置することができる。ディス

ク上の検体チャンバーは、特に、回転周波数またはその複数倍に等しい周波数を

検出チャンバーに照射するストロボスコープ光信号と一緒に用いる場合、一回の通過または複数回の通過において検出される光を照射および透過されるキューベットを構成することができる。また、検体チャンバーは、平面的波ガイドであり得、そこで、分析物は波ガイドの表面上で相互作用し、弱化した全内部反射の結果として光が吸収される（すなわち、分析物が、例えば、チャンバー表面に埋め込みまたは付着された化合物への特異的結合を用いて検体チャンバーの表面で隔離される場合、分析物は光源の強度を低下させる（Dassy, 1989年, Anal. Chem. 第61巻: 2191頁参照））。

同じ光学的設計で間接的吸収を用いることができる。間接的吸収測定のためには、分析物は光源を吸収せず、その代わり、検体チャンバー中において分析物が置き換わるときに二次材料の吸収中の低下が測定される。その増加した透過率は、分析物の濃度に対応する。

### 3. 振動分光分析

検出チャンバー、すなわち本発明のマイクロプラットホームの「読み取り」セクションからデータを発生させるためにも振動分光分析検出手段が提供される。赤外線（IR）光学設計は、電磁スペクトルのUVおよび可視光範囲における吸収分光分析に関して前述した設計パラメーターに類似であり、成分を赤外線周波数の代わりに最適化した。そのような最適化において、光学的経路中の全

ての材料は、IR光を透過しなくてはならない。ラマン光拡散情報を提供するための光学的成分の構造は、蛍光測定のために先に開示した図12Aおよび12Bに類似である。しかしながら、十分な信号を発生するのに必要な照射時間故に、ディスクの回転速度は低下しなければならず、また一部の 경우에는、停止しなければならない。用途により、本発明のディスクの分析のために適合された分離したIRまたはラマン装置において静止IRまたはラマン拡散分析がオフラインで最も有利に行われる。

### 4. 光拡散

ディスク上の濁度も測定することができる。光学システムおよび構造は吸収測定と同様である。この分析において、透過光の強度は、検体中の光拡散粒子の濃



度に関係する。このタイプの検出法の適用例は、粒子凝集アッセイである。回転ディスク中の沈殿粒子が大きいと、小さい粒子よりも迅速であり、ディスクの回転前後の検体チャンバー中の溶液の濁度は、チャンバー中の粒子の寸法に関連し得る。小さい粒子を、分析物の存在下においてのみ凝集させるとき、検体チャンバー中における分析物の存在を特異的に検出するために濁度測定を用いることができる。例えば、小さい粒子は、分析物に対する抗体で被覆することができ、それにより、分析物に結合した一つ以上の粒子から、抗体としての分析物の存在下に粒子が凝集する。この相互作用が生じた後にディスクを回転させると、分析物を含む検体チャンバーの濁度は低

く、検体チャンバーは分析物を含まないようになる。このシステムは、標準的量の分析物を用いて検量して、標準条件下における検体の濁度に関する分析物濃度の値を提供することができる。

本発明のマイクロシステムプラットフォームおよび装置と一緒に用いるために他のタイプの光拡散検出方法が提供される。光源、有利にはレーザー光源からの単色光が、ディスク上の流動溝の断面領域を交差するように導かれる。細胞のような検体中の粒子により拡散される光は、溝の照射部分において幾つかの角度で集められる(Rosenzweigら., 1994年, Anal. Chem. 第66巻: 1771頁~1776頁参照)。信号を解釈できる結果に関連付けるために適当な寸法にしたビーズのような標準に基づいて、データ整理を最適にプログラムして装置に導入する。そのようなビーズの検定セットを用いて、異なる寸法の粒子間の精密な識別を得ることができる。このシステムのもう一つの適用は、フローサイトメトリー、細胞計数、細胞分類および化学療法感受性および中毒性試験を含む細胞生物学的分析および試験である。

#### b. 電気化学検出方法

電気化学検出には、センサ要素と検体の間の、またはセンサ要素と検体とのつり合いの取れた気体のような物質の間の接触が必要となる。検体と検出器の間の直接接触の場合には、電極システムが直接ディスク上に作られ、回転前にディスクに取り付けられるか、ディスクが回転



を停止した後にディスクと接触するように移動される。検体についての情報を符号化するために気体蒸気を使用して構築される検出器は、気体蒸気が検体チャンパーと検出器の両方に接触するように構成されるならば、ディスクの外部の検出器によって作成できる。ディスクとインタフェースで結び付けられた電気化学検出器は、電位差計装置、ボルタンメトリー装置、およびamperimetric装置を具備し、マイクロシステム・ディスクを構築するために使用される材料と互換性のある任意の電気化学トランスデューサーを具備することができる。

### 1. 電位測定

本発明のマイクロシステム・プラットフォームで有効な電気化学検出手段の1つのタイプは、電位測定システムである。このようなシステムは、計器内の異なって活性化されたフロー・チャンネル上を通過する溶液の界面特性を特徴付けるための手段を提供する。本発明のマイクロプラットフォームの温度制御された性質を考えると、流れる電位もこの装置で測定することができる (Reijengaら、J. Chromatogr. 第260巻: 241を参照)。流れる電位を作り出すためには、ディスクの内側部分と外側部分で溶液と接触する2本のプラチナ・リード線間の電圧電位差が、基準電極と比較して測定される。流体が制御された向心運動の元、チャンネルを流れて流れるにつれて、流れる電位は移動する場でのディスク表面との流体相互作用に応じて発展する。

代わりに、エレクトロルミネセンス・イオンを生成するためにプラチナ電極が使用される (Blackburnら、37: 1534-9を参照)。それから、化学ルミネセンスが、化学ルミネセンス信号の波長に応じて、前記光学検出器の内の1つを使用して検出される。ボルタメーターの構成要素も、反応中間生成物または製品を作り出すために本発明の微小合成プラットフォームで有効である。

### 2. 電気化学センサ

電気化学センサも、ディスク内に有利に取り込まれている。1つの実施例では、酸化還元サイクル反応を使用する電気化学検出器が提供されている (Aokiら、Rev. Polarogr. 第36巻: 67頁を参照)。この実施例は、重要な種を含むマイクロ機械加工されたチャンバー内の固く組み合わされたmicroarr

ay電極を活用する。これは、検体の酸化され、還元された（つまり酸化還元）化学状態が判断できるようにする二重チャンネルpotentiostatを使用して達成されるか、あるいはチャンバーはある特定の種のために事前に設定される場合もある。重要な物質を含有する多量の流体が、チャンバーに向けられる。それから、電気化学的に可逆な種は、電極を周期的に付勢することによって酸化され、還元される。この実施例では、分子は酸化還元電流内の明白な上昇によって検出される。非可逆種は第1サイクルの後信号を寄与しないので、その最終的な信号に対する総体的な寄与

は抑制される。非可逆種のための信号を抑制するためには、データ分析ソフトウェアが使用される。

別の実施例においては、写真石版術によってチャンバー内に製作される、各回線が幅100  $\mu\text{m}$ で、回線管が50  $\mu\text{m}$ の寸法となる、最高16回線を含むマルチチャンネル電気化学検出器が提供される（Aokiら、1992年、Anal. Chem第62巻：2206頁を参照）。この実施例では、重要な物質を含む多量の流体が、チャンバーに向けられる。チャンバー内では、電気化学測定のための16の別個のチャンネルが作られるように、各電極に異なる電位が設定される。さらに、各電極電位は、関数発生器によってステップごとに掃引される。このプロトコルが、物質の酸化還元電流だけではなく酸化還元電位に関する情報も生じさせる。この種の分析は、voltammogramを介する分子の特定も可能にする。

#### c. 物理方法

本発明のディスクとの使用には、物理検出方法も提供される。例えば、ディスクは粘度計として使用することができる。試験対象の流体が入ったマイクロチャンネルは、ディスク上で挿入されたビードを具備するのが有利である。流体を通るビードの動きが分析され、マイクロプロセッサ・メモリ内で作成され、記憶される基準に基づいて粘度データに変換される（Linliuら、1994年、Rev. Sci. Instrum. 第65巻：3824-28頁を参照）。

別の実施例は、容量性圧力センサ（Esashiら、1992年、Proc.

Micro Electro Mechanical Systems 第11巻: 43頁を参照)である。この実施例では、シリコン基板およびガラス基板が、溶接密閉された基準空洞とアノードによって接着される。圧力は、シリコン隔膜とガラス上に形成されるアルミ電極の間のキャパシタンス変化により検出される。CMOS回路のキャパシタンスから周波数の変換器の出力は、シリコン基板上で集積できるか、あるいはディスクを離れた制御電子回路内に具備できる。

圧力センサの賢明な配置により、遠心分離のための圧力は、ディスク上の任意の位置で求めることができる。マイクロチャネル直径情報およびディスク上でのチャネルの向きのパターンとともに、圧力データは、ある特定の回転速度での流量を求めるために使用できる。それから、この情報は、ディスク上での流体の移動を制御する目的でディスク回転速度を調整するためにマイクロプロセッサによって使用できる。

表面音波(SAW)装置も、本発明のマイクロシステム・プラットフォームの構成要素として提供される。これらの装置は、頭隙気体を検出するためにディスク上に配置されるか、計器上の流体チャネル内に取り込むことができる。流体システム内に配置される場合、SAWは、変化するバッファ、試薬、または反応体組成を示す溶液中の密度の変化を検出するために使用される(Ball

antineら、1989年、Anal. Chem. 第61巻: 1989頁を参照)。

ディスク上のまたはディスクを囲む頭隙に閉じ込められる揮発性の気体は、複数の方法でモニタすることができる。例えば、ディスク上の気体のどちらかの溶液に接触して配置されるクラーク電極は、酸素含有量を検出するために使用できる(Collisonら、1990年、Anal. Chem. 第62巻: 1990頁)。

#### d. 放射性検出構成要素

本発明のマイクロシステム・プラットフォームは、放射能検出器を取り込むこともできる。本発明のディスク上の分析物または合成製品の放射性崩壊は、CCDチップまたは経時的に信号を統合する機能を備えた、類似する単独チャネル・ホ

トダイオード検出器を使用して検出できる。代わりに、放射性は、放射性分析物に接触してソリッドステート検出器を配置することによって直接求めることもできる (Lamtureら、1994年、Nucleic Acids Res. 第22巻：2121-2125頁を参照)。

#### モジュラー式構造

本発明のプラットフォームの構成要素として提供される分析システムは、典型的には、コントローラ、検出器、バッファおよび試薬貯蔵器、チャンバー、マイクロチャンネル、マイクロ弁、加熱器、フィルター、混合機、センサ、およびその他の構成要素から成り立つ。ディスク上

で分析システムを構成する構成要素は、以下の内の1つまたは複数から構成できる。ディスク上に完全に製作される完全一体化システム、1つの構成要素として製作され、ディスク内にまたはディスク上に組み立てられる完全一体化システム、1つの構成要素として製作され、ディスク内にまたはディスク上に組み立てられる構成要素のサブセットとインタフェースで結び付けられる構成要素のサブセット、同期してスピンするディスクを通して外部ディスクとインタフェースで結び付く構成要素、およびディスクに関して静止した状態のままである位置からスピンするディスクとインタフェースで結び付く構成要素 (例えば回転スピンドル)。

#### 方法および使用目的

本発明は、その柔軟性のため、無数の考えられる応用例および実施例を提供する。ただし、一定の機能は大部分の実施例に共通となる。これらの機能には、検体回収、検体のディスクへの塗布、検体塗布の時点での妥当性の試験の取入れ、ディスク上で実行される多岐に渡る特殊アッセイ、データ収集、処理および分析、データのメモリへの、ディスクのセクションへの、または通信ソフトウェアを使用した遠隔ステーションへの伝送と記憶、データのユーザへの (印刷と画面表示を含む) 出力、および (必要ならばディスクの滅菌も含む) 検体ディスク処置が含まれる。

検体または分析物は、特定の検体に適切な手段を使用



して回収される。例えば、血液は、病院または実験室の環境で真空の管内で、家庭または消費者で使用するためのランセットを使用して回収される。尿は、無菌容器内に回収され、従来の液体移送技術を使用してディスクに塗布できる。唾液は、少量の蒸留水、穏やかな洗剤、および砂糖調味の溶液で希釈され、ディスクに塗布されるのが好ましい。この溶液は、抗原、生物分泌液および微生物を検出するための口内洗浄剤／うがい薬として提供できる。代わりに、洗剤の製剤と咀嚼可能な樹脂が入った、魚網重合体物質から作られる小さな袋は、流涎を促進するためにユーザによって噛まれ、その後で口から除去され、唾液が回収され、従来のように塗布できる。羊水や髄液は、必然的に、資格を持った人員により一般に容認された医療技法を使用して回収される。

環境検体および工業検体は、地下水または工場排液から、検体内の浸出汚染を回避するために作り出された容器の中に回収される。土壌検体は、回収され、重要な分析物を溶解するように設計された溶剤で混合される。発熱物質審査などの工業用の用途は、特殊に設計された検体ポートを使用して達成される。

検体または分析物は、ユーザによってディスク上に装填される。検体は、回転の中心に近い位置でディスク上に乗せられ、それによって最大量の向心力が検体にかかることを可能にし、ディスクの表面全体でもっとも広範囲な経路を提供し、検体と相互作用するために使用可能

な流体処理構成要素の数、長さ、または配列を最大限にするのが最適である。図13Aから図13Cに図示されるように、複数の装填装置を使用して、複数の検体をディスクに塗布することができる。複数の装填装置のこの実施例では、複数のピペット筒が等間隔で配置され、放射状に配置される。ピペットは、ピペットの先端がディスクの表面上のアクセス・ポートに嵌まることを提供するように間隔をおいて配置される。先端は、表面特性および流体特性の組み合わせによって検体の特有の量を保持する単純なピンの場合がある。代わりに、先端が、毛細管やプラスチック円錐先端のような従来の中空管であり、流体は、手動または自動的なピペット装置を使用する場合のように、正の圧力または負の圧力に応じて手動で操作できる。装填装置は、手動でまたはロボット・システムによって操作す



ることができる。筒も、柔軟な配置で整列され、先端が線状のアレイを有する構成で、放射状のアレイを別の構成で処理することを可能にする。各実施例では、装填装置は、本発明のディスク上での装填先端の再生可能な配置を保証するために位置合わせ装置を含む。

装填装置は、特に調査中の物質用に設計される。例は、(検体が、血液、汗、唾液、尿、と涙、および組織検体および排泄物に加えて、血液、羊水、髄液、胸膜液、心膜液、腹膜液、精液および滑液を含む体液を含む)医療使用目的、および環境物質と(大気ガス、水、および水溶液、

産業化学物質、および土壌を含む)工業物質を含む。装填装置は、体節間膜と適合される真空管などの標準的な血液処理装置と互換性があり、体節間膜を貫通することによってその中の検体に接近する。装填装置は、病巣回収装置および少量の血液検体を得るためのランセットのような手段とも互換性がある。ディスクは、血液を直接採取するために、一体型ランセットおよびゴム製のシールも備える。

ディスクの静的な装填だけではなく動的な装填が、本発明の適用範囲内であると想像されている(Burtisら、1974年、Clin. Chem. 第20巻: 932-94頁を参照)。

本発明は、移動を達成するために前記のようにマイクロシステム・プラットフォームと、このプラットフォームを操作するための微小操作装置の組み合わせを含むので、構成要素の配置は、ディスク上、装置上、あるいはその両方で配置されるように選択することができる。機械的な装置、電子的な装置、optico-electronic装置、磁気装置、磁気光学装置およびそれ以外の装置が、ディスク内、またはディスク表面上に具備されることがある。いくつかのオンディスク装置は、前記に詳細に説明された。さらに、ディスクは、ディスク機能の調整用のマイクロプロセッサを含む電子回路、およびディスク操作装置やその他の装置との通信のための装置を具備することがある。ディスクは、検出器とセンサ、またはこれらの装置の構

成要素と(電気化学システム用の電力供給、分光器システム用の電磁放射源などの)さまざまな検査機構用のエネルギー源、またはこのような検出器とセンサの操作およびこのような検出器とセンサを使用したデータ生成を促進する光学的に透明な物質のような物質、弁、チャネル、およびその他の流体コンパートメントを含むディスク上の流体の移動を制御するための機械的、電氣的、および電磁的な装置を具備するアクチュエータ、電磁手段(レーザ、赤外線、無線周波数、マイクロ波)、電気手段、またはその他の手段を使用してディスクとプレーヤー/読取装置の間の通信を調停する通信装置とデータ処理装置、システム診断、アッセイ・プロトコル、およびアッセイ・データの分析を含む、ディスク上での手順と工程を制御するために設計された回路を含むのが最適である。これらは、製造の時点だけでプログラミングされるASICまたはROM、FPGAのEPROM、フラッシュ・メモリ(UV消去可能EPROM)、またはプログラマブルICアレイ、あるいは微小操作装置またはその他の装置によってユーザによってプログラミング可能な類似したアレイの形で提供される。また、本発明の構成要素には、CPUとマイクロプロセッサ装置、およびディスク通信によってプログラム可能なアセンブラ言語や高級言語で動作する対応するRAM、およびリモート・ディスプレイやデータ分析システムとのファクシミリ/モデム通信を含む、他の装置との通信を調停するための構

成要素も具備される。

オフディスク装置は、マイクロプラットホーム微小操作装置自体、およびディスク上で情報にアクセスし、情報を書き込み、またはプロセスを始動できるそれ以外の装置を含む。図15は、微小操作装置の一部である装置と副装置のカテゴリを説明し、そこで構成要素がどのように相互作用するのかを示す。「相互作用」とは、本明細書中では、ディスクと装置の間、または装置自体の構成要素間での「データ」の交換を意味するために使用される。これらの構成要素の関係が以下に説明され、構成要素の詳細な例が後に続く。

これらは、機械的な駆動装置と回転のモニタと制御、総体的なシステム制御のための回路、データ読取り装置/書き込み装置、ディスクとの使用のための外部検

出器とアクチュエータ、専用データと符号化されたデータとアッセイ・データを処理するためのアッセイ・プロセッサ、中央処理装置、ユーザ・インタフェース、およびディスク、ユーザ、およびその他の装置に通信するための手段を含む。機械的な駆動装置と対応する回路は、ディスクの回転速度と角度位置を正確に制御し、モニタするための装置、およびカセット、ターンテーブル、またはその他の複数ディスク記憶装置から複数ディスクを選択し、取り付けるための装置を具備する。システム制御装置は、事前にプログラミングされたまたはユーザ・インタフェースにアクセスできる状態の総体的な装置制御を提供す

る。ディスク・データ読取り／書込み装置は、符号化された情報をディスクまたはその他の媒体から読み取るために提供される。最適には、ディスクへの書込み機能が具備され、ディスクの任意のセクションがディスク上で実行されたアッセイから生成される分析データを記憶できるようにする。このオプションは、ディスクが、生物学的な危険またはその他の危険、危険を中和するための（滅菌のような）不在手段で汚染されているディスクの使用目的では有利ではない。装置は、外部検出器とセンサ、または分析装置と診断装置を含む、ディスク上のその他の構成要素と協力して動作する検出器とセンサの構成要素だけではなく、マイクロ弁を作動し、ディスク上でプロセスを始動するための、光学的な磁気光学構成要素、磁気構成要素および電気構成要素を含む外部アクチュエータも具備することがある。ディスク微小操作装置のある種のこれらの面は、図14Aから図14Fに説明される。

符号化されたディスク・データの処理と操作を使用可能にする、ディスク・データ・プロセッサも、本発明の装置の中に有利に取り込まれる。これらの構成要素は、微小操作装置CPU、(FPGA、PLAなどの)プログラマブル回路、および(ASICのような)専用チップセットによって使用されるソフトウェアを含む。また、イベントから生じるデータおよびディスク上で実行され、外部検出器によって検出されるか、オンディスク構成要

素から通信されるアッセイを処理するためのアッセイ・プロセッサも提供される

。また、装置は、中央処理装置またはディスク・データの処理およびアッセイ結果データ分析を(事前プログラミングによって)可能にするコンピュータも含むのが有利である。さらに、従来のコンピュータ機能(ワープロ、グラフィック作成など)も提供できる。

キーパッド、光ペン、モニタ、インジケータ、フラット・パネル・ディスプレイ、通信オプションによるホスト装置または周辺装置へのインタフェースを含むユーザ・インタフェース、およびプリンタ、プロッタ、およびグラフィック装置は、本発明のマイクロプラットホーム微小操作装置の構成要素として提供される。通信と電気通信は、(RS-232、IEEE-488M SCSIバスのような)標準的な結線によるインタフェース、短距離または長距離の電気通信(「セルラー」電気通信無線周波数)および手動または自動化された電気通信用の内蔵モデムまたは外付けモデムを介して提供される。

ディスク情報は、その上に構築されるマイクロシステム・アッセイの操作を促進するためのディスクに書き込まれるソフトウェアと、ユーザによるマイクロシステムの使用中に作成されるアッセイ・データの両方を含む。ディスク情報は、(光学的に符号化されたデータのような)ディスクに書き込まれる資料、および(磁気ピックアップを通して、または弁位置にある被覆材の反射特性を通

してアクセスできる、弁の現在のステータスなどの)ディスクに固有の情報を含む。ディスクに書き込まれる情報は、(バイナリ、binhex、アセンブラ言語などの)音声/ビデオ/試験および機械形式の情報を含むことがあるが、音声/ビデオ/試験および機械形式の情報に制限されない。このデータは、ディスクをスピンさせたり、アッセイを実行するための制御プログラムの始動に使用されるシステム制御データ、ディスク構成に関する情報、ディスク・アイデンティティ、使用、分析プロトコル、およびプログラミング、プロトコル記述、診断プログラムおよび試験結果、使用の時点情報、分析結果データ、および背景情報を含む。取得されたデータ情報は、アナログまたはデジタルとして記憶することができ、未処理データ、処理済みデータ、または両方の組み合わせとなることがある。

システム制御データは、正しい角速度(複数のことがある)と加速で極微装置



が機能できるようにするための同期データ、およびディスクの物理パラメータに関係するデータを含む。ディスク構成および互換性データは、希望の試験プロトコルの適用性を判断するために使用されるディスクのタイプに関するデータ(オンディスク装置、弁、および試薬チャンバー、反応チャンバー、および検出チャンバーの構成)を含む。このデータは、ディスクのタイプおよびディスクの機能の機能上のアイデンティティを提供する。それは、また、ディスクでのアッセイの

始動の前にマイクロシステム・プラットフォーム構成要素をチェックするための対話型フィードバック・システムの一部を形成することがある。ディスク識別および連続番号は、各ディスク上で符号化されて提供され、それらのデータが製造メーカーによって符号化される、製造日付、ディスク・タイプおよび使用、およびユーザによってディスクに書き込まれるユーザ情報によるディスクの正確な識別を可能にする。ディスク・データには、ユーザによってディスクで実行される手順の履歴も含まれる。ディスク・データには、ユーザによって書き込まれる情報だけではなく、典型的には機械認識(つまり、どのくらいの数のアッセイおよびどのアッセイが未使用のまま、または使用のために準備完了常態にあるか)のために書き込まれる、ディスクで実行される手順の履歴も含まれる。

図30-32は、ディスクを駆動する装置を制御するために使用されるディスク上で符号化されるソフトウェアの動作を表示する。図30は、プロセス・フローを表示する。ディスク上でデータとして符号化される制御プログラムは、(コンパクト・ディスクまたは「レーザビジョン」ディスクなどの)光記憶手段のレーザなどの従来の手段によって読み取られ、微小操作装置のランダム・アクセス・メモリ(RAM)にロードするために従来の方法で復号化される。それから、このプログラムが実行される。いくつかのアプリケーションでは、プログラムの実行から完成は自動的であり、ユーザとの活動的な対話

はない。それ以外のアプリケーションでは、ユーザは、プログラムを実行するための(典型的にはメニューとして)多岐に渡るオプションを提示される。例えば



、診断、試験手順、分析またはその他の機能の網羅的なセットまたは制限されたセットを実行するかどうか、あるいは詳細の程度および試験結果を報告する方法を決定するかどうかなどのユーザ選択肢は、ユーザ・インタフェースを通して提供される。

図31および図32は、前記毛細管マイクロ弁を使用してアッセイを実行するためのプログラミングされたステップの1つの特殊なセットを示す。プログラム内のステップのそれ以外の配置は、通常の技術者には明らかであり、例えば、マイクロ弁およびその他のアクチュエータを起動するための信号を送るために容易に統合されるだろう。ここで開示されるプログラムは、異なった回転速度が、毛細管の弁調節、混合、およびインキュベーションを見越した時間の量を変化させるために設定されるブロックから成り立っている。(例えば)スピンドル・モータを発振加速および減速を通して行う混合プログラム・ブロックは可能であるが、図示されていない。これらのプログラム・ブロックは、コマンドをさまざまな電子装置(モーター、検出器など)に出力すること、および装置からデータを読み取ること、装置およびプロセスのステータスの基準を生み出すことから成り立つ。(モータが適切な速度に到達できない、装置までのドアが閉

じられない、分光計測定のための光源で電力が検出されないなどの)ステータスが「不良」の場合、プログラムを停止するための装置が、プログラム内に示されている。この状態は、(図示されるような)プログラム停止につながるか、あるいはさらに指示を求めてインタフェースを介してプログラムをユーザに送り返すことになる。

ここに示されるプログラムは、さらに、データ取得ブロック、データ分析ブロック、およびデータ出力ブロックも取り込む。ここでの特定の取得プロセスは、データの取得をゲートで制御するために、ディスク上での符号化された信号——例えば、検出器を通過する検出チャンバーと結び付いた光信号——の使用を必要とする。このようにして、データは、検出チャンバーが検出器に近接している特殊な時点のために取得される。また、データのどの部分が分析に有効であるのかを判断するために、データを連続的に採取し、そのデータ内の特徴——例えば、

そうでなければ不透明なディスク上でのウィンドウのアレイのための方形波のように見えることがある、時間の関数としての信号の形状——を使用することも可能である。データ分析は、それ以外の方法だけではなく、非直線最小四角形適合、時間の関数としてのデータの線状回帰、または端点分析(反応のための端点時間でのデータ)を含むことがある。データ出力は、ユーザ・インタフェース、数値データ、および内蔵記憶媒体または外付け記憶媒体に対する「イエス／ノー」回答の形を取ることが

ある。

このプログラムのすべての構成要素パーツがディスク上に具備される必要はない。例えば、プログラムは、コンピュータに常駐し、ディスクを使用するのに必要な回転速度プロファイルを得るために、ディスク自体を読み取るように設計できる。データをいつ、どのようにして読み取って分析するかなどのプログラムの他のすべての面は、専用プログラムの一部とするか、他の媒体から読み取ることができる。

分析／試験プロトコル・データは、ディスクで実行できる試験および分析の記述である。これらのデータは、ディスク上に指定されるタイトルのように簡略となる場合もあれば、ディスクの使用目的、試験プロトコルとデータ分析プロトコルを含む、データ分析と処理の詳細な記述を含む場合もある。さらに一般的なソフトウェア機構でのシステムに指定されるサブルーチンとして使用できるか、あるいは装置が希望の分析を実行できるようにプログラマブル論理回路に供給できる、分析／試験プロトコル・プログラミングが提供される。背景情報、有効な使用目的のための条件、予防措置、およびその他の面を含む、ディスク上で実行される分析プロセスの音声記述、ビデオ記述、テキスト記述またはその他の記述のような分析／プロトコル記述が提供される。

暗号化および検証データ／プログラミングは、プログラミングと、ディスクによって実行される分析で生成さ

れるデータの機密保護を保証するために提供される。暗号化／解読ルーチンは、

ディスク上に記憶されるデータへのアクセスを制限するために使用される。このようなルーチンは、医療診断用途でも使用される。

システム自己診断も提供される。システム診断は、ディスク・メモリに記憶されるか、診断の時点で使用される別個の装置によってディスクに書き込まれる検出器機能に関する試験結果、試薬チャンバー、弁、加熱要素およびその他の構成要素のステータスを含む。

使用の時点情報は、例えば位置、時間および人員などを含む、ビデオ、音声またはテキスト画像の形で、その使用の時点（検体装填など）で、ディスク上に符号化される。使用の時点情報には、これらの手順が実行された時点で、ディスク自体またはディスク・プレーヤー／読取装置によって記録される、試験結果データも含まれる。

ある種のデータは、ディスクにとって固有であり、微小操作装置を通してアクセスすることができる。これらは、適切な貯蔵器およびディスクのその他の流体処理領域における検体または試薬の存在または不在を記録する検体妥当性試験データを含み、外部検出器およびセンサを通してアクセスすることができる。ディスク内で実行される手順の間の弁ステータスの変化の記録を含む、弁のステータスも記録される。弁ステータスは、例えば、磁気弁機構に付けられる装置内の磁気ピックアップを使用することによって判断される。ステータスは、ディス

ク上の光学ウィンドウを通して可視とすることもできる。ディスクの外面上の放射性化学汚染物または生物学的な汚染物は、装置を含むセンサによる検出時に記録でき、ディスプレイやプリントアウトのようなユーザ・インタフェースへ送達される警告メッセージを生じさせるのが最適である。

ディスク・データおよび情報は、ディスク材料の記録媒体（つまり、光学的に読み取られるディスク、もっとも好ましくは読書きCD-ROMの反射特性）および電子構成要素を使用する装置自体の両方を含む、多岐に渡る媒体を使用して記憶される。情報は、コンピュータ情報記憶に使用される従来の技術または改良された技術を使用して符号化される。ビデオ情報、音声情報、およびテキスト情報は、デジタル・ビデオ業界、オーディオ業界およびコンピュータ業界によって

開発された方法を使用してデジタル化される。ホトダイオード検出器や光電子増倍管内で観察される信号のような、試験手順から生じるアナログ信号は、アナログ／デジタル変換管理様式を通して変換されるか、あるいは、オフディスクまたはオフ装置を処理するための外部ジャックを通して未処理形式または増幅形式で供給されることがある。本発明のディスク操作装置のさまざまな実施例は、データをディスクへの読み込みと書き込みの両方のため、あるいはこれらの任意の媒体タイプから読取専用データを使用するための容量を含む。暗号コードおよび認証コードが、機密保

護目的で利用できる。ディスク記憶装置媒体は、音声CD、CD-ROMから適応される技術と「レーザディスク」技術、およびバーコードを使用して、表面上の反射する／反射しない平面部と窪みを活用する光学媒体を具備する。磁気光学媒体および磁気媒体も、従来の磁気記憶媒体を使用する、本発明のこの面の適用範囲内にある。情報処理用の電子構成要素（FPGA、PLA、EPROM、ROM、ASIC、ICネットワーク）の内部アレイのステータスを使用する、電子データ記憶手段も提供される。検出器セクションまたは装置のチャンバーの簡略な染色を含む化学記録手段も、試験結果の簡略な視覚的な記録を提供するために開示される。この簡略な化学記録手段は、単に化学マーカの存在または不在に基づいて分析できるアッセイを判断するために必要とされるよりさらに機能において精密な高価な装置を必要としなくても、自宅での診断への達成方法となる。

#### ソフトウェアおよび通信

マイクロシステム性能、品質管理、データ取得、取扱および処理、および通信のための情報および命令セットを提供するソフトウェアは、本発明の適用範囲内に含まれる。この発明の目的のために、このようなソフトウェアは、「機械言語命令」と呼ばれる。制御と分析ソフトウェアが、C/C++、Visual Basic、FORTRANまたはPascalのような高級言語で提供されるのが有利である。ドライバは、ホスト・コンピュー

タのバス上で命令を微小操作器コマンドに変換する（装置に内蔵されているか、



または装置とインタフェースで結び付けられるホスト・コンピュータに内蔵されるかのどちらかの) インタフェース・ボードのために具備される。さらに、LabViewのような実験制御ソフトウェア用ドライバが、再び、従来の業界規格インタフェース・プロトコルを使用して作成できる。これらのアプリケーションは、UNIX/Linu、X-windows、Macintosh、SGIなどの多くの一般的なコンピュータ・プラットフォームで実行される機能を備えるのがもっとも好ましい。制御および分析は、専用チップセットと回路、ROM、およびEPROMを使用しても実行できる。例えば、試験有効性は、すべてのプログラミングが、エンドユーザの破壊の可能性なしに製造の時点で実行される、ROMベースの試験手順を使用して(少なくとも部分的に)保証することができる。別個のアプリケーション・ソフトウェアを、ディスク・プレーヤーからのデータを非コントローラ・プラットフォーム上で、(Excel、Clarissworks、SigmaPlot、Oracle、Sybaseなどの) 使用可能なアプリケーションを使用して分析できるように開発することもできる。

本明細書中に開示されるディスク技術のいくつかの用途は、人間の健康に関する重要な質問を含むので、ディスク診断ソフトウェアは、結果の有効性を保証するため

に、ディスクの診断、その内容(検体、試薬、装置)、プレーヤー、および分析ソフトウェアを分析できなければならない。この診断ソフトウェアによって使用される情報のタイプには、検体妥当性とフロー、ディスク形式とソフトウェア/試験手順互換性の検証、オンディスク・ソフトウェア試験とオフディスク・ソフトウェア試験、(例えば、チャネル配置と位置合わせのような)ディスク製造の品質管理モニタ、オンディスク・センサと検出器およびオフディスク・センサと検出器の実行可能性、位置決め、および機能性、プレーヤー通信、マイクロプロセッサ、マイクロプロセッサ/CPU、電力安定性などの診断を含む。

機械構成要素および電子構成要素の診断は、技術に熟練した者が熟知する方法で実行される。ソフトウェア自己診断は、(微小操作装置、またはディスクのどちらかから)システム・ハードウェア、またはシステム・ソフトウェアのその他

の構成要素との非互換性を検出するために、ソフトウェア・ルーチンとサブルーチンのチェックリスト／検証を使用して達成される。

検体に関するディスク診断は、フローのアッセイ、検体妥当性、および試薬妥当性、タイプ、およびアッセイが実行されるための品質を含む。装置に関するディスク診断は、検出器／センサ機能のチェック、電子構成要素自己試験、弁調節、および熱制御試験を含む。ソフトウェア診断は、ディスク内または装置内で符号化され

るソフトウェア構成要素の自己試験、破損保護手段、読取専用試験、および読書き試験を提供する。ディスク形式も、ディスク診断を使用してチェックされ、ディスク形式とアッセイ・タイプが適切に読み取られ、装置メモリ内に保持されるプロトコルと一致していることを保証する。

オンディスク・ソフトウェアは、ROMとして使用可能な読取専用ソフトウェア、特に診断、アッセイ制御、およびデータ分析用のCD-ROMを含む。読取専用ソフトウェアは、変更することが不可能で、ディスクの適切なおよび使用ユーザによる破損に対するフェイルセーフ機構を保証する特殊な手順とプロセスのために設計されている。ソフトウェアは、符号化媒体(光学、磁気など)内、あるいは(バーコードのような)代替媒体内で実現することもできる。(FPGA、PLA、EPROM、またはICアレイのような)再プログラマブル・ソフトウェアは、ディスク微小操作装置、またはこの目的に設計された装置によって再プログラミングすることができる。類似したタイプのソフトウェアは、代わりにオン装置で提供される。どちらかのケースでは、装置のキーボード、タッチパッドまたはディスプレイ構成要素、あるいはそのすべてを介するユーザ・インタフェースが具備される。

アプリケーション・ソフトウェアは、読取専用ソフトウェア形式または再プログラマブル・ソフトウェア形式

で提供される。本発明の流体微小操作機器のこの構成要素に含まれるのは、標準コンピュータ・データ記憶媒体から読み取ることができるソフトウェアである。

例は、ディスクまたは装置メモリないに記憶されるか、ニュースレターとニュース・サービスのようなネットワーク化されたワークステーションまたはアクセス・オンライン・サービス、およびパターン認識、統計分析ソフトウェアなどの画像の作成と分析用のソフトウェアからアクセスすることができる、集積データベースに依存する医療用、または分析用診断プログラムを含む。

制御とアプリケーション・ソフトウェアの統合は、本発明のディスクと微小操作器用に開発された独特なオペレーティング・システムの使用、または既存OSの適応のどちらかによって行うことができる。最適には、OSは、テキスト、グラフィックス、ビデオおよび音声を使用しやすい「ポイント・アンド・クリック」システムに結合するためにオーサリング・ソフトウェアを使用する。OSなどは、ディスク読取装置／プレーヤー製造メーカーまたは独立したソフトウェア開発者によって補助的なソフトウェアの開発のために提供するだけでなく、洗練されたユーザによるプログラミングをカスタマイズするために、オブジェクト指向環境またはそのファクシミリ(例えば、LabViewベースのシステム)も提供できる。

OSは、ディスクおよびディスク・ベースのアクセイ

の設計を可能にするためにも選択できる。回転動力と安定性のシミュレーションを含む機械的な設計、およびフロー・シミュレーションは、ディスク設計ソフトウェア・パッケージに有利に含まれる。

本発明の通信面は、ユーザからまたは遠隔制御と分析サイトへのデータ入力と出力に関するハードウェアとソフトウェアの実施例を含む。結線による通信機能は、(例えば、ビデオ信号用のVGAバスのような)ローカル・バスおよび(RS-232、IEEE-488、SCSIバスのような)従来の結線によるインターフェース、イーサネット・コネクション、AppLink、およびさまざまな企業内情報通信網(LAN)を通した高速データ伝送と通信、ビデオ伝送と通信または画像伝送と通信を含む。電気通信装置は、短距離通信用セルラー・トランシーバー、長距離通信用の無線周波数とマイクロ波トランシーバー、および手動または自動化電話通信用内蔵モデムまたは外付けモデムを具備する。ビデオ・イン／

アウト・ポート、データ伝送用のアナログ・アウト回線、他の計器からのアナログ信号の入力用の入力ジャック、および光学と赤外線通信ポートも、周辺計器との通信のために具備される。

ある種のアプリケーション用途のための微小操作装置の構成

極微装置は、前記のようなハードウェアとソフトウェ

アのさまざまな組み合わせを含む。図15は、装置内での通信、装置、検出、および制御計装の一般的な組み合わせの図解である。ある種の用途がある種の機能を備えていないことがあり、例えば、携帯装置はグラフィック・ユーザ・インタフェースを備えていないことがある。微小操作装置は、「スタンド・アロン」装置であるか、あるいは例えば、コンピュータ、プリンタ、および画像処理装置を含む装置のさらに大型の集合に対する周辺計器、または制御パッド、(ニュートン・タイプの装置または同等なもののような)データ入力/読出し装置のような周辺要素用のホスト、または統合型システムである可能性がある。すべての実施例での装置は、一定した速度と可変速度の両方で回転するためのハードウェア、および回転速度をモニタするためのシステムを含む。装置は、検体とディスクの診断を開始し、本明細書に記述されるように「外部」試験と検出を実行し、検体とディスクの診断を開始し、本明細書に記述されるように「外部」試験と検出を実行し、弁のような特殊なアクチュエータを通してディスク上で解析を開始し、ディスクに固有な情報とディスク内で符号化される情報、またはその他のデータ/情報記憶媒体情報を読み取り、いくつかの用途では情報をディスクに書き込むための装置も具備することがある。

システム制御、データ・プロセッサ、アッセイ・プロセッサのアレイ、外部検出器、外部アクチュエータ、アッセイ・アウトとデータ・アウト回線、通信、およびソ

フトウェアを含む、装置内の補助的な要素は、装置に特殊または用途に特殊、あるいはその両方である。

例えば、「使用の時点」携帯または家庭用使用用途では、検体の装填後にプレー



ヤーのプログラムの起動が続く。システム制御は、ディスク内または装置内に記憶されるさまざまなプログラムにアクセスできるフロント・パネル制御とインジケータによって提供される。これらの「結線による」プログラムは、ディスクまたはメモリから、またはディスクまたはメモリへ動作を読み取るため、または動作を読書きするために、あるいは外部装置を使用して試験を実行するため、その両方のためにコントローラ回路を利用する。装置は、単独手順の性能のために設計できるか、あるいは手順のセットまたは単独ディスクを使用する同じ手順の複数の実施例を実行するために事前にプログラミングすることができる。このタイプの装置のこれらのプロセッサ(複数の場合がある)およびデータ・プロセッサ(複数の場合がある)は、分析データ(アッセイ・プロセッサ)および符号化されたデータ(データ・プロセッサ)を処理するように設計される。これらのプロセッサからの情報は、フロント・パネルまたはビデオ・ディスプレイ上でユーザに出力するために使用可能となり、アッセイのための正しい運転条件を保証するために内部で使用することもできる。この内部情報処理は、デスク・アイデンティティと試験タイプの互換性を保証するためのシステム診断試験の結果、検出器ポート・スキャニ

ング試薬と検体の貯蔵器を通る光吸収によって判断される試薬と検体の存在、試験が開始する前に検出される汚染の存在、および外部検出器とアクチュエータでの自己診断の結果を含むことがある。これらの結果は、要求された試験が実行できるかどうかを判断するために、システム・コントローラによって使用される。

ロードと起動の後に、分析結果は、電子メモリ内で内部に記憶されるか、ディスク上で符号化することができる。それから、これらの分析と手順の結果は、適切なビデオ・ドライバを使用してフロント・パネル・ディスプレイ(フラット・パネルLCDなど)に送られる。処理されたアッセイ・データも、RS-232、RS-232C、IEEE-488を含む多くの標準的なデジタルI/Oシステムの内の1つ、およびデジタルI/Oとインタフェースから精通したその他のシステムに送ることができる。同様に、符号化されたディスク・データは、音声/視覚ディスプレイに送ることができる。未処理アナログ信号も、オフ装置記憶

または処理のために1つまたは複数の外部ジャックに切り替えることができる。

もっとも技術的に精密ではない装置の実施例は、限られた数の手順用のプログラマブル、または事前にプログラミングされた角加速／減速プロファイルのための、ディスク・ドライブ、コントローラ、およびセクタから成り立つ携帯型オーディオCDプレーヤーより大きくない携帯型装置である。このような装置は、現場での有毒

化学物質／汚染試験に有利である。試験対象の分析物は、プレーヤーに差し込まれるディスクに導入され、適切なプログラムが選択される。分析結果は、後でさらに大型のプレーヤー／読取り装置によって読み出されるためにディスク上で記憶されるか、またはユーザにただちに表示されるか、あるいはその両方である。結果は、インジケータの固有の状態(例えば、さまざまなキュベット内でのリトマス紙の陽性／陰性ステータス)としても記憶でき、それ以外のデータ収集または分析は装置によって実行されない。このデータは、さらに大型のプレーヤー／読取り装置によって、またはフィールド作業環境外のその他の手段によってアクセスされるだろう。検体収集の位置、時間、およびその他の条件についての情報は、ユーザ・インタフェースを通して入力される。

別の実施例は、アクティブな通信機能とさらに高い柔軟性を備えたスタンド・アロン式装置である。このような装置用の例示的な用途は、家庭用血液アッセイ装置である。この装置は、好ましくは単に1つの単独ボタンを押すことによってだけ、ディスク上に血液を滴下し、ディスクを挿入し、アッセイを始動する個人によって使用される。それから、1つまたは複数の分析手順が実行される。アッセイ・データは、オンディスクで、または装置内のどちらかで必須分析を実行するソフトウェアに転送される。装置は、家庭用電話回線に恒久的または一時的に取り付けられ、自動的に未処理データまたは削減され

たデータを、伝送されたデータを分析するために使用される、中央位置にあるコンピュータに伝送し、データを一般に容認された基準または同じ患者からの過去のデータ、あるいはその両方と比較し、患者の装置の一部として、恒久的な記録

をデータ、おそらくデータ分析およびアドバイスまたは（内科医に連絡するなどの）提案／推薦された連続処置の受取りの確認とする。

デスクトップ周辺／ホスト・アプリケーション・ステーションは、多くの考えられるデータ・プロトコルの内の1つで、ホスト・コンピュータからの命令を受け入れ、ホスト・コンピュータに応答する能力を備えた前記の装置から構成される。システムは、ホストの役を果たす機能を備えるか、あるいは周辺装置やその他のネットワーク化された装置とワークステーションへデータを伝送することができる。事前にプログラミングされた機能の遠隔アクセス機能、機能の再プログラミング機能、およびリアルタイム制御機能も提供される。

この用途のさらにもう1つの実施例は、病院内のナース・ステーションとして配置される対応するソフトウェアを備えた集中化されたまたは臨床のプレーヤー／読取り装置である。試験がディスク上で実行されると、情報は電話、ファクシミリまたは短距離トランシーバーを介するページャーによって内科医に中継される。患者のアイデンティティは、バーコードと、装置に取り付けられたライト・ペンを使用することによって検体回収の時点で

入力することが可能で、確実な患者／検体識別という優位点を提供する。

前記機能と機能性を備え、さらに高解像度グラフィック機能、画像処理機能およびそれ以外の機能も備える統合型コンピュータとのインタフェースも備える装置も提供できる。コンピュータは、周辺システム用に前記機能を実行するための装置の制御を与えるが、実際の統合はデータ伝送速度を大幅に加速する。さらに、統合型システムには、広範囲な分析ソフトウェアおよび背景データベースと情報が具備される。ドーナツ形スライドトレイのディスク記憶カセットもこのようなシステムの有利な機能である。この種の統合型システムは、大型分析実験室環境で有効である。

独立型のシステムは、隔離された環境での用途に有効である。例は、環境上の目的から北極圏で使用される空気、水、土壌の試験装置のような遠隔環境または寛大ではない環境で使用される、または有毒化学物質検出の戦場で使用するための装置を含む。

本発明によって提供されるマイクロシステム・プラットフォームは、質量分析計、ガスクロマトグラフ、高圧液体クロマトグラフ、液体クロマトグラフ、毛管電気泳動、誘導結合プラズマ分光法、およびX線吸収精密構造のような、他の解析計器に検体を準備するためにも有効である。いくつかの用途では、最終製品は、分析されるためにディスクから取り除かれる。

検体は水性の2相分離システムを取り込むことによって装置上で事前凝縮され、浄化できる。これは、例えば、ポリエチレングリコール(PEG)とデキストランのような熱力学的な差異に基づいて互いに分離する2つの相を混合することによって達成できる。代わりに、比色分析のような環境試験は、光学信号を凝縮し、高めるために曇り点分離を取り入れることによって改善できる。さらに、小型スケール逆流クロマトグラフィーも装置上で実行できる(Foucault、1991年、化学分析、第63巻：PAGEを参照)。ディスク上の向心力は、異なる密度の流体を強制的に互いに逆らって流れさせるために使用でき、クロマトグラムを作成するための密度傾きに沿って構成要素が分離する結果となる。

#### 用途と使用目的

本発明の流体力学極微機器機器を構成するマイクロシステム・プラットフォームおよび微小操作装置には、設計の柔軟性のために、多岐に渡る微小合成用途と微量分析用途があり、流体は、プラットフォーム回転時に生じる向心力によってプラットフォーム上で動かされる。後述されるのは、用途のタイプの短い代表的な実例であり、網羅的でもなく、本発明の実施例のすべてに制限的となることも意図していないが本発明の適用範囲内にある。

本発明は、研究、特に生物学研究用途での微量分析に有利に使用される。このような微量分析には、免疫アッセイ、重合酵素連鎖反応、合成酵素連鎖反応、および磁

気連鎖反応を含む生体外増幅ルーチンが含まれる。DNAの制限酵素消化とDNAフラグメント・サイズ分離／分別を含む分子アッセイおよび微生物学アッセイも、本発明のマイクロシステム・ディスクを使用して達成できる。DNAフラグ



メント連結反応、置換合成、放射能標識および蛍光標識化や抗原性標識化のような微小合成操作も、本発明のディスクを使用して達成できる。DNAの酵素置換合成を使用する多岐に渡る合成プロトコルを使用する核酸シーケンシングが実行でき、結果として生じるネスト化された単独撚りDNAフラグメントのセットの分解と分析は、ディスク上で区別され、特定され、顕微鏡自動化DNAシーケンシング機械に現在使用できるこのようなソフトウェアで修正された常駐ソフトウェアを使用して、1つの配列に配置することができる。それ以外の用途には、pH測定、濾過と限外濾過、親和カクロマトグラフィーと逆相クロマトグラフィーを含むクロマトグラフィー、電気泳動、病原体のミクロ培養と識別を含む微生物用途、フロー血球計算、免疫アッセイ、および顕微鏡規模で実行されるその他のこれまでの従来の実験室手順が含まれる。

説明例は免疫アッセイである。現在のところでは研究と臨床で使用されている抗原／抗体相互作用を検出するためには複数の実験上の方法論が存在するが、もっとも堅牢な免疫アッセイプロトコルは「サンドイッチ」タイプのアッセイを必要とする。このようなアッセイでは、不

動にされた抗体が、不動にされた抗体に特殊な抗原性分析物がないかどうか、試験対象の検体に提示される。同じ抗原の異なるエピトープに特殊な第2抗体は、その後、結合され、2つの結合された抗体の間で抗原の「サンドイッチ」を形成する。このようなアッセイにおいては、第2抗体は、放射能標識または蛍光標識のような検出可能な部分、または酵素機能性や触媒機能性に連結される。例えば、その強度がサンドイッチ内で結合される第2抗体の量に関係する、基板内での色変化を生み出すために、ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリ性ホスファターゼが使用される。

このような免疫アッセイを実行するために適応されるディスクの例は、図17Qに示される。この実施例では、第2抗体は、アルカリ性ホスファターゼ（AP）に連結される。AP活動の存在と量は、次に示す例示的な基板の内の1つの酵素による比色的な変換をモニタすることによって判断される。つまり、B-ナフチル燐酸塩は、ジアゾニウム塩が存在する場合には不溶性アゾ色素に変換する。

5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル燐酸塩は、硫酸銅が存在する場合は、5, 5'-ジブロモ-4, 4'-ジクロロ・インジゴに変換される。あるいは、4-methylumbelliferyl燐酸塩は、450 nmで光を放射する4-methylumbelliferoneに変換される。

1つの例示的な実施例では、反応チャンバーは、抗体が抗体の反応チャンバーへの吸着によって不動にされる、

抗原に特殊な抗体を含む。反応チャンバーに隣接して有利に配置されるのは、第2抗体が入った試薬貯蔵器であり、この抗体はアルカリ燐酸塩のような酵素に連結されている。前記抗体により明確に認識される重要な抗原を含むことがある検体が、入口ポートで装填される。ディスクは、まず検体を不動にされた抗体が入った反応チャンバー内に導入するためにスピンされ、その後で、不動にされた抗体を、抗原が検体内に素材する程度まで飽和するのに十分な時間が経過した後で第2抗体の反応チャンバーへの導入が続く。代わりに、検体は第2抗体と接触され、相互作用することを許されてから、反応チャンバー内に導入される。検体の抗体によるインキュベーションは、約1分間回転させずに実行される。各インキュベーションの後に、バッファ貯蔵器からの洗浄バッファが、結合されていない抗体を除去する目的で反応チャンバー内にスピンして入れられる。アルカリ性ホスファターゼ・アッセイの場合、水中の2 mg/mLのo-dianisidine、50 mMのホウ酸/50 mM KCl (pH 9.2) バッファ中の1 mg/mLのB-ナフチル燐酸塩、および100 mMの塩化マグネシウムの溶液が、適切な量で反応チャンバーに送達される。酵素連結された第2抗体結合の範囲は、ホトダイオードまたはCCDカメラを使用する紫色の沈殿の検出によって評価される。

免疫アッセイ用途のために構成されるディスクは、説明のために図17Rに示される。

本発明の免疫学的アッセイの代替実施例では、本発明は、特定の細胞の存在と数、または流体、もっとも好ましくは血液、尿、羊水、精液、および乳汁のような生物学的な流体の細胞のタイプを特定し、量を計るための手段を提供する。本

発明のこれらの実施例では、マイクロシステム・プラットフォームは、選択的に特定の細胞または細胞タイプを結合するために調整される、チャンバーまたはディスク上の一様な面を含む。細胞を表面に付着した後、比特殊結合細胞とその他の構成要素は、流体フロー(洗浄)または(ディスクの向心加速に応じて流体の慣性フローを含む)向心力によって取り除かれる。マイクロプラットフォーム表面またはチャンバーに付着されたままの重要な細胞が検出され、顕微鏡的手段、分光学手段、蛍光手段、化学ルミネセンス手段、または光分散手段を含むが、顕微鏡的手段、分光学手段、蛍光手段、化学ルミネセンス手段、または光分散手段に制限されない手段を使用して定量化される。また、本発明は、特殊表面に付着されたこのようなセルを、生体に影響する薬剤またはその他の治療の効き目を判断するための代謝モニタのような毒性モニタのために提供する。このような表面の並べられたアレイは、ある種の生物学的な検体の純度と無菌度の完全な判断を促進するため、および細胞血球計算用途と血球計算用途のためにある種の実施例で提供される。

#### 特定の細胞または重要な細胞タイプの特殊結合のため

のディスクの表面またはチャンバーは、そのための特殊結合サイトを提供するために調整される。典型的には、抗体、好ましくはモノクロナル抗体が表面またはチャンバーに付着され、抗体は、細胞または重要な細胞タイプで表現される細胞表面抗体に特殊である。代わりに、特定の細胞または重要な細胞タイプで表される細胞表面受体に特殊なリガンドは、特定の付着サイトを提供するために使用される。特に調整された表面またはチャンバーのアレイは、ディスクのある種の実施例に提供される。表面とチャンバーは、例えば、表面を適切な抗体の溶液と接触させることによって提供される。これらの調整方法の実践においては、表面の抗体との接触の後に、表面の、ウシ血清アルブミン非特殊のような非特殊遮断蛋白との接触が続く。抗体と遮断蛋白は、この目的のために有利に使用できる(インク・ジェット印刷用途で使用されるような)圧電的に駆動されるポイント・ヘッドを使用して表面またはチャンバーと接触させることができる。代わりに、スクリーン印刷、つまりエアブラシを使用してチャンバーまたは表面上に抗体溶液

を噴霧することも利用できる。これらの方法は、0.1-10mm規模で表面とチャンバーを調整する際に好まれる。補助的な代替策では、microlithographic技法およびmicrostamping技法が表面またはチャンバーの調整に使用できる。

本発明の実践では、特定の細胞または重要な細胞タイプが入った生物学的な流体またはその他の流体の検体は、

調整済みの表面またはチャンバーに塗布され、細胞または細胞タイプの表面への特殊結合を可能にするほど十分な時間の間、調整済みの表面またはチャンバーと接触して許される。表面との接触は、多量の流体の細胞沈降特性によって阻止されるので、マイクロシステム・プラットフォームでの横方向の高さが最小に抑えられたチャンバーと表面が好まれる。

非特殊細胞結合は、このような非特殊結合を除去するのに十分な流体量で表面またはチャンバーを洗浄することによって、最小限に抑えられるか、あるいはチャンバーまたは表面から排除される。洗浄は、表面またはチャンバー上での流体の単純なバルク・フローによって達成される。

洗浄後、表面またはチャンバーに付着したままの細胞が検出され、カウントされる。好ましい実施例では、検出とカウントは、蛍光顕微鏡検査を使用して達成される。本発明の実践では、ディスクに残っているあらゆる生きている細胞に蛍光信号を提供するために特殊な色素が使用できる。色素は、例えば、アセトキシ・メチル・エステル色素のような膜浸透色素を使用して、表面またはチャンバーに直接付加することができる。代わりに、特殊抗体は、このような色素に連結できる。色素は、マイクロシステム・プラットフォーム上への導入の前に細胞を含む生物学的流体に付加できるか、あるいはこのような色素はディスク上でもどの場所にある細胞と接触できる。

細胞の存在は、光源、ソース・フィルター、ダイクロイックフィルターまたはミラー、エミッション・フィルター、および光電子増倍管のような検出器を含む、蛍光検出器を使用して検出される。

別に例では、ディスクの中心から外側へ放射する100µmの正方形断面チャ



ネルを含むマイクロプラットホーム・ディスク上で薄層クロマトグラフィーが達成される。各チャネルは、機械的な強度と安定性を提供するために、典型的には澱粉、石膏、ポリアクリル酸塩および類似物のような結合材（0.1-10%）を含む分離基質で充填される。（従来のTLCアプリケーションでのこのような化合物の使用は、Pooleら、1994年、化学分析、第66巻：27A頁に説明される。）吸着剤も、例えばセルロース、ポリアミド、ポリエチレン粉末、酸化アルミニウム、珪藻土、マグネシウム珪酸エステル、およびシリカゲルを含む、分離チャネルを含む材料の中に含まれる。このような基質は、例えば、ジメチルシラン、エチルオクタシラン、および3-アミノプロピルシランのようなシラン化分子で改良することができる。分離基質が、吸着剤に含浸したファイバーガラスまたはPFTEマトリックスを含む。

検体は、ディスクの回転の中心に近接して配置されるポートを介して装填される。ディスクをスピンすると、移動相が、分離基質を通して外側に流れることができるようになり、検体構成要素を特性速度でディスクの周辺

部に運ぶ。移動相は、ヘキサン、メタノール、およびジクロロメタンを含む、複数の適切な溶剤システムから選ぶことができる。特定の吸着剤の選択は、ディスク材料、分離基質、および分離対象の検体の構成要素の性質に依存する。同様に、分離された検体構成要素を検出するために使用される視覚化試薬の選択は、分離される物質に特殊である。例えば、ニンヒドリンが、アミノ酸を検出するために使用される。alimonyl塩化物は、炭化水素のために過マンガン酸カリウムに加えて使用される。硫酸は、炭水化物のためにアニスアルデヒドに加えて使用される。および臭素はオレフィンに使用される。分離がCCDカメラを使用して達成された後の分離チャネルを想像する。him層クロマトグラフィー・アプリケーション用に構成されるディスクは、説明のため図17Rに示される。

本発明のマイクロシステムを使用する医療用途は豊富であり、堅牢である。本発明のさまざまな実施例は、血液構成要素、血液気体、薬剤濃度、代謝産物、および感染剤の高速分析用の家庭用装置、臨床用装置、病院用装置、および携帯用装置を提供する。家庭用モニタ実施例では、本発明は、患者が血液の小滴、尿の

検体、または唾液の検体をディスク上の特定の塗布領域に付加し、ディスクを装置に差し込み、ボタンを押して装置を始動することを必要とする簡略で使用しやすい消費者にフレンドリな装置を提供する。病院の環境では、ベッドの傍ら

での実験実施例と臨床実験実施例の両方が提供され、ベッドの傍らでの実施例は、電子的に例えばナース・ステーションに配置される中央処理装置にリンクされ、臨床用実施例は、患者検体の高速自動化診断用医療参照ライブラリを含む。本発明の医療用途は、(化学療法薬剤で治療されている患者での血小板のカウントのモニタのような)血液試験、代謝産物、薬剤およびその他の生物学的な種とその他の化学種用免疫アッセイ、摂取効き目モニタ、エリテマトーデスのモニタ、糖尿病患者での血液グルコース・レベルまたはケトン体レベルの決定、自動コレステロール試験、自動血液薬剤濃度決定、トキシコロジー、患者のベッドの傍らでの\*\*その他の医療に関連する血液構成要素の電解質のモニタ、セプシス/エンドトキシンのモニタ、アレルギー試験、および血栓モニタを含む。

発明は、また、臭境試験、工業用用途、および規制準拠に、分析計器も提供する。産業品質管理制度の一部として設置されるさらに広範な実施例だけではなく、携帯型、好ましくは手で持たれる実施例が提供される。本発明のこれらの実施例の用途は、規制準拠のために使用される分析物試験、特に産業排液と廃棄物質の試験、産業用の、もっとも有利には人間消費材アイテム、特に医薬品と特殊なエンドトキシン決定の品質管理を含む。香料およびその他の複雑な混合物の試験、混合および評価のための用途も本発明の適用範囲内にある。

本発明は、反応体制または産業用生産制度を縮小シミュレーションで試験、評価できる化学反応と合成モデル化も提供する。本発明は、本発明のマイクロシステム・プラットフォームを使用した分析と最適化の後に、巨視的なレベルに調整できる潜在的な研究、医療用と産業用の化学反応体制の費用効果の高いプロトタイプ化を提供する。

微小合成方法と法廷用用途を含む、多岐に渡るその他の用途が提供される。

後記例は、本発明のある種の好ましい実施例をさらに説明することを意図する

が、まったく制限的ではない。

#### 実施例 1

化学分析、合成および用途用のマイクロプラットフォーム・ディスクの作製

本発明のマイクロプラットフォーム・ディスクは、中でも、成形、粉碎および破碎の場合のため、テフロン、ポリエチレン、ポリプロピレン、メチルメタクリレート類およびポリカーボネート類のような熱可塑性樹脂から作製される。代わりに、ディスクは、シリカ、ガラス、水晶または不活性金属から作ることができた。流体管理システムは、熱可塑性物質に段階的形態で設置されたこれらの材料の1つまたはそれ以上連続用途によって構成される。図17Aから17Eは、DNAシーケンシングを行うために適合したディスクの概略図である。本発明のディスクを、射出成形され、従来のコンパクト・ディス

ク(CD)の手段で光学ピットを有する光学的に透明な基材\*層で作製する。このディスクは、直径120mm、厚み100µmの円形のポリカーボネード製ディスクである。光学ピットは、装置を制御するプログラミング、使用者のインターフェイス情報、アプリケーションおよびドライバ配置に特徴的な映像および音響をコードする手段を提供する。ドライバの配置は、微小操作装置がハンドーヘッド、ペンチトップまたはフローアモデルであるかどうか、外部情報伝達の詳細およびその他の特定のハードウェアの配置にも左右される。その後、この層を、反射性表面に、外部検知機、特に光学検知機のための適切な窓に被せられて、ディスクの上に透明物を残す。様々な厚みのポリカーボネートのその他の層が、ディスクの上にチャンネル、リザーバー、反応チャンバーおよび、弁および他の制御構成要素のためのディスク上の設備を含めた他の構造の形態で敷設される。これらの層は、予め作製および与えられた用途のために適切な幾何学で切断され、そしてディスクに取付けできる。ポリカーボネード以外の材料を含む層も、ディスクに組込むことができる。ディスク上の層の組成物は、大部分で、ディスクで 사용되는べき試薬に特定の用途および要求される化学的適合性に依存する。電氣的層は、電気泳動用途および電気制御弁などの電子回路を必要とするディスクに組込むことができる。弁、集積回路、レーザーダイオード、光ダイオードおよび選

## 択的加熱領域またはたわみ論理構

造を形成しうる抵抗ネットワークのような制御装置を、適切に架設された嵌込みに、ディスク上にモジュール据付を直接行うことによって組込むことができる。乾燥して保存できる試薬は、インクジェットのヘッドと同様な手段を使用してリザーバーに噴霧することによって適切な開放チャンバーに導入し、その後ディスク上で乾燥させることができる。その後、ポートおよび空気抜きを含む頂部層、ポートまたはシャフトを載せる。その後、液体試薬を、適切なりザーバーに射出し、さらに薄いプラスチック製フィルムを含む保護カバー層の塗布を行う。

様々な他のディスク配置は、図の凡例で記述されるとおり特定の用途に適合して図17Fから17Pに開示される。

### 実施例2

#### 血液組成物測定

図18に示されるとおりの多くの微小チャネルを有する微小チャネル層を包含する装置内で行われた実施例1で記載されるとおりに製造された分析用マイクロプラットフォーム・ディスクを用いて、ヘマトクリット分析を介して血液組成物を測定できる。微小チャネル層は、100  $\mu\text{m}$ 厚みであり、そしてアッセイの間の凝集を避けるためにヘパリンで処理される。分析されるべき血液検体は、図18に示されるとおり回転の方向に垂直に配列されたチャネルに毛細管作用によって引込まれる。多数のこのようなチャネルを、ディスクに放射状に配置してよ

い。試験されるべき全検体がチャネルに引込まれると、ディスクを8,000から10,000 rpmの速度で回転してチャネル内の赤血球の沈降を効果的にする。いったん適切な時間(3~5分)遠心が行われると、各検体のヘマトリックを、上述の装置で従来のCDレーザーシステムを使用して、各チャネルのストロボリーダによって同時に測定する。レーザーが、赤血球の境界線を通過すると、光ダイオード検出機によって検出される光のスキャタリングパターンにおける変化は、装置の内部プロセッサおよびメモリーに保存される標準化セットの光スキャッタ/ヘマトリック情報に基づいたヘマトクリット値に変換される。代わり



に、生の情報は、分析用のマイクロプロセッサに赤外線ポートまたはハードワイヤード・インターフェイスを介して繋がられる。このような中央マイクロプロセッサは、病院内の看護ステーションのような中央制御された所在での場所にまたは代替物に、または電話または他の推定接続法によりヘマトリック測定装置に連結された医療センターにある。ヘマトリックは、ディスク上にヘラで作られた血液滴を簡単に塗布し、次いで簡単な仕様の装置および自動ヘマトリック分析を行い、そしてその場所でデータプロセッシングするかまたは中央位置の習熟した医療従事者に伝送することにより、未訓練の個人（患者を含め）によって測定できる。本発明のこの具体例は、ヘマトリック増殖性疾患（白血病、リンパ腫、骨髄腫、貧血のような）を示す患

者の長期的監視を提供する。

さらに、血液ガスは、ヘマトリックチャンネル内に埋設された集積電極を有するか、またはヘマトリックディスク上の血液ガス測定にかけられた別のチャンネルを有するディスクと組合せて上述の装置を用いて測定できる。血液酸素添加（ $P_{O_2}$ ）は、薄層Cr-AuカソードおよびAg-AgClワイヤーアノードを包含するクラーク型電極によって測定される。血液中の二酸化炭素の量は、pHモニターとしてISFET（磁界効果トランジスタの1タイプ）を用いたシビアーリング型電極によって測定される。血液pHは、液体接合部とAg-AgClワイヤー電極を包含する対照電極を有する $Si_3N_4$ ゲートISFETを使用して測定される。ヘマトリックディスクまたは代替的多様なこのディスクを使用して行われる血液ガス、電解質濃度および他の情報についてのこのような分析方法のさらに別の例は、ShojiおよびEsashiの顕微鏡規模の方法の改変法として記載される（センサーズ・アンド・アクチュエーターズ（Sensors and Actuators）B第8巻、205頁、1992年）。

血液分析は、Bor Fuhらによって記載されたスプリットフロー（split-flow）・薄セル（SPLITT）分画法を用いて行うこともできる（バイオテクノロジー・プログ。（Biotechnol. Prog.）、11:14-20、1995年）。SPLITT分析用に形成される概略例は、図19に示される。この工程は、タ

## ンパク質および

脂質タンパク質、血小板、赤血球、リンパ球、単核細胞および好中球の富画分を生成できる。非接触環状チャネルは、いずれかの末端で薄壁を組込むディスク中にエッチングされ（図19）、入口流のスプリッターである。検体および担体流は、一端の対峙側で導入され、そしてそのチャンバーは、その方向に回転させる。回転するチャンバー内で、2つの明確な分割平面は、流体力学的力、入口分割流（ISP）および出口分割流（OSP）に基づいて設定される。ISPは、担体流に対する検体の比を調整することによって調節可能である。検体投入の方法によって、2つの明確な分離モードが可能であり、それは平衡および移送モードである。

平衡モードでは、分割は、使用された遠心フィールドに対する成分の平衡に基づいている。分離は、出口流比を調節することによって最適化される。その後、富画分は、出口流スプリッターのいずれかの側面から収集される。移送モードでは、成分は、ISP上に薄い単層として導入される。沈降係数での差異に基づいて、高移送比を示す成分は、オリフィスで出口弁の反対側に選択的に方向づけられる。可変のフロー弁がこの明細書のどこかに記載されている。別の具体例で、各SPLITTチャンバーは、それに必要とされる分離型、ISPまたはOSPに取分けることができ、その流れは、固定された流れの制限されたオリフィスによって調整される。

上で同定された画分に血液を十分に分画するために、

各々2つの画分を回収する5回の分離が行われる。このタイプの分画に使用される本発明のマイクロシステムディスクの1つの具体例は、図19に示される。5つの同心SPLITTセルが、C1（回転の中心に近い）からC5（周囲に向かって）で識別されてこの図に例示される。血液検体は、C1に導入されて、適切な速度でディスクを回転することによって移送モード分離にかけられる。血小板およびタンパク質（画分1）は、回転の中心に向かって分画され、そして血液細胞（画分2）は、周囲に向かって動く。画分1は、C2の入口に導かれる一方で、画分2は、ディスクの適切に位置づけられた弁を開閉することによりC3に導かれる。その後、

その画分をそれぞれ移送および平衡モードの分離にかける。これらの技術を使用して、画分1は、回転の中心に向かって血小板に、そして周囲に向かってタンパク質になる。画分1は、回転の中心に向かって血小板に、そして周囲に向かってタンパク質になる。画分2は、回転の中心に向かってリンパ球および単核細胞を、そして回転の中心に向かって赤血球および好中球を、そして周囲に向かって単核細胞を構成する画分3および4を生成する。画分4は、回転の中心に向かって好中球を、そして周囲に向かって赤血球を生じる。したがって、血液を5つの分離成分に分画することが達成される。

タンパク質画分での酵素の活性は、固定化酵素を用いて測定できる (Heineman、アプ・バイオケム・バイオテ

ク (App. Biochem. Biotech. )、第41巻、87-97頁、1993年)。例えば、血液特異的酵素 (グルコース・オキシダーゼ、アルカリ性フォスファターゼ、およびラクテート・オキシダーゼのような) は、ポリビニルアルコール (PVAL) で固定化できる。ラクテートオキシダーゼは、2層のPVALの間に酵素の薄い層を挟むことによって白金グラファイト電極上に固定化される。センサーは、ネットワークに拡散するラクテートの酵素触媒的酸化によって発生された過酸化水素の電気化学的酸化によってラクテートに応答する。発生される電流は、過酸化物の濃度に比例し、順次ラクテートの濃度に比例する。このセンサーは、1.7-26  $\mu$ Mの範囲のラクテートの濃度に感受性を示した。

分離によって、各画分は、画分の相対的成分を測定する検出システムによって調べられる。代わりに、各画分は、さらなる研究オフ装置についての出口を通過してディスクから取出される。例えば、各画分は、抵抗モニターを含む2つの電極を通過する薄い蒸気にセルを通過させることによって簡単な計数にかけることができる。細胞が電極を通して通過するとき、抵抗に対応する上昇が観察され、計数される。その後、これらのデータは、元の検体中の比較的多くの各々の細胞型を測定するサイズに関して分配された標準セットの粒子に基づいて集積される。

その画分は、各細胞型に特異的に染色する蛍光抗体に

かけることができる。細胞は、チャンネルに不可欠な微小フィルターによって適切な場所に担持され（米国特許第5,304,487号）、染色され、そしてディスク上で洗浄される。その後、得られた標識細胞は、その細胞に繋がって染色する蛍光の程度の関数として定量できる。

### 実施例3

#### DNAサイズ分けおよび突然変異検出

実施例1によって製造され、図20に例示されたディスクを用いた二本鎖溶融分析法を使用して、DNAサイズ分けおよび特定の部位でのDNA中の特異的突然変異の検出を行う。DNA溶融計（共同所有で、共に係属中の1994年3月24日提出の米国特許出願連番08/218,030号で記載されるとおり、そして全体的に参照してここに組み込まれる）は、実施例1のディスクの構造に予め組み込まれる。DNA溶融計技術は、DNA二重らせんの変性点が、その二重らせんの二重鎖の長さ、塩基の組成、および相補性の程度に依存するという事実を利用する。変性点は、その分子のいくつかの物理的状态（温度、または尿素またはホルムアミドのような変性化合物の濃度のような、および使用された一連の標準状態に、装置のマイクロプロセッサおよび/またはメモリーに保存できるそれから得られた情報に関連して測定できる。全ての特定のDNA二重らせんをサイズ分けするために、ストレプトアビジン被覆ビーズに付着させることによって、1つの株をディスク上に固定化させる。ビ

ーズは、チャンネルによって加工されたフィルターによって保持される（米国特許第5,304,487号参照）。代わりには、ビーズは、チャンネルに近接して位置づけられたディスクに取込まれた天然磁石を使用して磁界を敷設することによってチャンネルに保持された常磁性ビーズである。電磁気を使用できる。電磁気は、直接ディスクに取込まれ、そして0.8ボルト（直流）を500mAでかけることによって作動される。他の株は、特に蛍光染料または放射性アイソトープを使用して標識される。代わりには、DNA分子それ自身の明確な光学的特性（すなわち、濃色性）は、260nmでの吸光度を監視することによって未標識DNA分子を使用して検出される。この態様の方法は、紫外線を発生および検出する



さらに精巧な装置を必要とするが、使用者のDNAの調整は、最小限にされ、そして検体当たりのDNA製造のための費用は、非常に減らされる。本発明の方法の実施には、固定化され、標識された二重らせんをディスク上に置き、そしてディスク上に含まれる緩衝溶液を蒸気流をかける。蒸気流を展開する間に、DNAは、さらにそのDNAに対する変性物を徐々に添加することによって、蒸気流に生じた変性の勾配を制御する。3. 5インチの有効半径を示し、および回転速度600rpmで、流速10uL/分は、直径100umのチャンネルで生じうる。各々300uLを含有する4つの緩衝液リザーバーは、ディスクの4分円の各々(直径の25mmから50mm

の位置から伸びる800umの深さの)に取込むことができる。10uL/分で、これを30分の融解ランプにかける。各二重らせんは、勾配での特徴的濃度の変性物に分離し、そして装置のマイクロプロセッサおよび/またはメモリーに変性物のプロフィール情報が、保存されている標準と比較して同定できる。変性は、適切な検出手段(紫外線吸収についての光学的手段、蛍光検出、または放射性アイソトープで標識されたDNA標準のための放射性アイソトープ検出機(Geiger-Mueller計数計)を用いて、溶融チャンバーの下流のリーダによって検出される。

本発明のこの態様のディスクおよび装置を使用する例は、ポリメラーゼ連鎖反応または磁性連鎖反応(後者は、1995年1月19日に提出された米国特許出願連番第08/375, 226号に開示され、それは、1993年6月9日に提出された米国特許出願連番第08/074, 345号および1994年12月8日に提出された米国特許出願連番第08/353, 573号の出願記録(ファイルラッパー)継続出願であり、各々は、その全てを参照してここに組み込まれる)によって生成されたDNA断片の検出、同定およびサイズ測定である。蛍光染料または放射性アイソトープのような検出可能な標識で標識された1つのプライマーを使用して増幅を行い、そしてその他のプライマーを、プライマーを固定化させる分子(例えば、ビオチン)に共有結合的に付着する。

増幅後（以下の実施例4にさらに詳細に説明されるとおりオフディスクまたはディスク上のいずれかで）、例えば増幅反応混合物を、壁面がストレプトアビシンで被覆されるディスクのチャンネルまたは区画に移動することにより、または増幅混合物を、ダイナル（Dyna1）M-280ダイナビーズ（Dynabeads）（直径2.8  $\mu\text{m}$ のポリエチレン被覆常磁性粒子）のような結合マトリックスを含むディスク上の区画に移動することによって、標識されたビオチン化二重DNA産物断片を、ストレプトアビシンで被覆された固形支持体に付着させる。標準化サイズ・マーカは、増幅産物断片と比較するための対照セットのDNA断片を提供するための増幅後区画に内包される。この分析で、複数の増幅反応から得られる多くの様々な二重らせんDNA分子、または多くの別個の増幅反応は、同時に逐次サイズ分けされ、反応—または断片—特異的検出可能な標識を使用することにより、各断片または一連の断片が他のものと異なっているか、またはその断片のいくつかの他の物理的特性で異なる。オフディスクで行われる増幅については、断片に付着したビーズは、ビーズ（「光学ピンセット」）または磁性誘引によるサイズ排除などを保持する能力のあるディスク上でチャンネルにかけられる。後者（磁性誘引）の具体例では、磁性保持手段（天然磁石または電磁石）は、第二のディスクを第一のものと同調して回転させたディスクに不可欠であるか、または適切な区画内

でDNA断片を固定化するように装置に敷設される。

基本的に上述のとおり、DNAサイズ分析も行われ、その結果保持粒子は熱変性勾配にかける。結合DNA断片を変性するのに使用された熱勾配について、ペルチエ熱ポンプ、直接レーザ加熱または抵抗構成要素を使用して、熱エネルギーを徐々に加えることによって変性範囲で結合区画の温度を増やす。上述のとおり、30分の溶融ランプにかけながら、直径100  $\mu\text{m}$ のチャンネルに流速10  $\mu\text{L}/\text{分}$ が生じ得る。区画は、上述のように、結合／溶融チャンバーから変性された標識標品を溶出する蒸気流にかける。結合から下流に、溶融チャンバーは、染料標識および光ダイオード検出の共鳴振動数でのレーザ励起のようなDNA断片変性を検出する適切な手段である。生の吸光度または他のシグナルの強度および

対応温度は、マイクロプロセッサに集積され、そして各DNA断片のサイズは、内部DNAサイズマーカー対照そしてDNA溶融プロファイルおよび装置のマイクロプロセッサおよび／またはメモリーに保存される特性と比較することによって決定できる。

DNA突然変異も、溶融計分析によって検出する。試験されるべきDNA断片（増幅誘導断片および制限酵素消化またはクローン化断片を含め）を、目的の遺伝子または遺伝子断片の結合標準（典型的には野生型）コピーを用いて製造およびハイブリダイズする。オンー装置または従来のDNAハイブリダイゼーション法（Hame

sおよびHigginsのNucleic Acid Hybridization: A Practical Approach、RickwoodおよびHames編、IRL Press: オックスフォード、1985年）を用いることによって、ハイブリダイゼーションを行う。ハイブリッド化断片の溶出は、その2つの種のDNA株（すなわち、野生型と突然変異体）の間の適合性の程度に左右される。その1つの株がその固定化を許す分子に共有結合的に付着される野生型DNAを使用して、ハイブリダイゼーション分析を行う。その後、その二重らせんの $T_m$ よりかなり高い温度（特に、DNAは、 $90^{\circ}\text{C}$ より高い温度までまたはホルムアミドのような変性剤の存在下でそれより低い温度で加熱される）で洗浄することによって、非共有結合的に付着した標品を溶出する。溶出を監視して、さらなるハイブリダイゼーションに利用可能な結合した一本鎖産物の濃度を測定する。概して、溶出されるDNAの量は、例えば、紫外線光の吸光によって、監視され、そしてDNAがもはや溶出されないときに、結合DNAが完全に一本鎖と考えられる。野生型DNAを製造し、その結果試験されるべき突然変異DNAのただ1つの（相補的なもの）株の検出可能な標識化を必要とするため、二重らせんを形成するその株の内の1つのみが、固定化分子に共有結合的に付着される。代わりに、いずれの株が、検出可能に標識される両方の突然変異株を必要として、結合的に付着できる。ただ1つ

の野生型株が固定化分子に共有結合的に付着している場合でさえ、突然変異断片を二重標識する利点は、ハイブリダイゼーション中に非相補的株の変性および溶出を監視することができること、および野生型DNA株に対する突然変異の非特異的結合／ハイブリダイゼーションが検出できることである。

ハイブリダイゼーションが完了した後、上述のとおり、熱または化学的変性プロトコルの改変によって、その株の相補性の程度を測定する。同時にまたは実験的分析の前のいずれかで作製された不適性DNA二重らせん溶融のパターンを比較することによって、二重らせん溶融の結果生じるパターンの分析を行い、標準を用いて、装置マイクロプロセッサおよび／またはメモリーに保存するかまたは、単一塩基または複数の不適性物が予測される。このような比較は、様々な特徴づけられた疾病関連の遺伝子多型性について個々を迅速スクリーニングする決定をすることに基づいて形成する。

DNA突然変異は、溶融計によって検出することもできる。この具体例で、試験DNAをディスク上に固定化し、一組の予備特徴づけ試験プローブで、ハイブリダイゼーション／変性分析にかける。この方法を用いて、DNA断片は、試験管内増幅技術を用いて製造するのが好ましく、その結果、プライマーの1つに結合分子を共有結合的に付着させるため、1つの株は固定化される。この方法を使用して、検出可能に標識されるような、一連

の十分に特徴づけられたDNAプローブを変性させることによって、試験すべきDNA断片を実質的にハイブリダイズし、溶出する。代わりに（各プローブに予測されるDNA不適性の特性によって）、様々な検出可能な標識で検出可能に標識されたプローブを用いて、ハイブリダイゼーションおよび変性を多重化し、その結果各プローブは同定可能である。この方法は、上述のとおり遺伝的スクリーニングに有用である。

#### 実施例 4

##### DNA増幅および分析

DNAの断片をポリメラーゼ連鎖反応（PCR）または磁気連鎖反応によって試験管内で増幅させ、そしてキャピラリー電気泳動によって分析する。500b



p 標的断片を増幅する増幅サイクル中の試薬混合、プライマーのアニーリング、伸長および変性、およびその配列の分析を、上記実施例 1 に記載された装置およびディスクを使用して行う。ディスクの構造の概略図は、図 2 1 に示される。

ディスクは、少なくとも 3 つの検体流入ポート A、B および C を包含する。ポート A は、30 アトモル (約 100 pg) の線状バクテリオファージ・ラムダ DNA を注入させる。ポート B および C は、それぞれ配列プライマー 1 : 5' - GATGAGTTTCGTGTCCGTACAACCTGG - 3' (配列番号第 1 番) およびプライマー 2 : 5' - GGTTATCGAAATCAG

CCACAGCGCC - 3' (配列番号第 2 番) を示すプライマー 1 および 2 の 20  $\mu$ M 溶液 5  $\mu$ L を流入させる。

ディスクも、図中の 3 つの試薬リザーバー D、E および F を包含し、それぞれ、蒸留水 54  $\mu$ L、100 mM トリス HCl (pH 8.3) の溶液 10  $\mu$ L、500 mM KCl、15 mM MgCl<sub>2</sub>、0.1%ゼラチンおよび 1.25  $\mu$ M の各 dNTP ; および 1  $\mu$ L の Taq DNA ポリメラーゼを 5 単位/ $\mu$ L の濃度で含む。

さらに、ディスクは、フレキシブルプレートウェーブ成分 (米国特許第 5,006,749 号で記載されるとおり) を用いて、これらの試薬の混合を促進するために作製された反応チャンバー G を包含する。そして、反応チャンバーの配置に含まれるのは、ペルチエ成分を介した冷却および加熱手段である。これらの成分は、ディスクに不可欠で、またはその反応チャンバーに特異的に加熱および冷却を提供するように装置に配置されうる。また多重な一組の反応成分 A から G を含むディスクを提供する。

検体 DNA およびプライマーを各セットのポート A、B および C に導入することにより増幅を開始する。全検体およびプライマーがポートに導入された場合、ディスクは、試薬を反応チャンバー G に混合させる効果を示す 1 ~ 30,000 rpm の速度で回転する。同時に、リザーバー D、E および F を制御する弁は、開放され、そ

してこれらのリザーバーの内容物は、反応チャンバーGに送る。検体DNA sを混合しながら、フレキシブルプレートウェーブ成分の活性化によって、プライマーおよび試薬を増大する。DNA増幅は、以下の熱サイクルプログラムを用いて、反応チャンバーで起こる。反応混合物を、最初95℃に3分間加熱する。それ以降、増幅サイクルは、段階1、95℃で1分間インキュベートする；段階2、37℃に1分間で冷却する；そして段階3、72℃で3分間加熱する段階を含む。この増幅サイクルを総数20回繰り返す、そして反応は、72℃で5分間インキュベートすることによって完成される。

ディスクを1~30,000rpmの速度で回転させ、そしてキャピラリー電気泳動ユニットHに至る反応チャンバーGの弁を開放することにより、その結果、電気泳動ユニットにある量の反応混合物を移動させるキャピラリー電気泳動ユニットHに移すことによって増幅DNA断片を分析する。反応混合物の量、特に10μLは、反応チャンバーGで弁が開放される時間の長さとはディスクが回転する速度の組合せによって決定される。以下に実施例11に記載されるとおり、キャピラリー電気泳動を完了し、そして上で実施例2に記載されたとおり光学的または他の手段を用いて検出されたDNA種を分画する。この方法は、制限された検体の条件下で検体中でPCRおよび他の増幅反応を行うために有益に用いられる均質化された増幅および分析装置を提供する。

#### 実施例5

##### DNA制限および消化および分析

制限酵素消化および制限断片の分析は、実施例1に上述されるとおりのディスクおよび装置を用いて行う。制限エンドヌクレオチドで二本鎖DNA断片を消化し、そしてキャピラリー電気泳動によって、実質的に分析する。試薬混合、DNA消化および制限断片分析をディスク上で行う。そのディスクの構造の概略図は、図22に示される。

ディスクは、検体流入ポートA；3つの試薬リザーバーB、CおよびD；実施例5で上述のとおり試薬を混合するために配列される反応チャンバーE；およびキャピラリー電気泳動ユニットFを含む。試薬リザーバーは、リザーバーBに2

0単位/ $\mu\text{L}$ の濃度の制限酵素、例えばHindIII 1-2 $\mu\text{L}$ ；リザーバーCに100mMトリス-HCl (pH7.9)、100mM MgCl<sub>2</sub>および10mMジチオスレイトールの溶液4 $\mu\text{L}$ ；およびリザーバーDに30 $\mu\text{L}$ の蒸留水を含有する。多重な一組の反応成分AからEを備えるディスクも提供される。

4 $\mu\text{g}$ バクテリオファージ・ラムダDNAを含有する溶液（概して、10mMトリス-HCl、1mM EDTA (pH8)）4-5 $\mu\text{L}$ を検体流入ポートAに設置することによって、DNAの制限酵素消化を開始する。ディスクを1~30,000rpmの回転速度で回転させ、そしてリザーバーB、CおよびDを制御する弁を開放す

ることによって、リザーバーB、CおよびDにDNA検体および試薬を反応チャンバーEに移送する。混合後、反応チャンバーE中で37℃で、1時間反応物をインキュベートし、その反応チャンバーを特異的に加熱するようにディスクに、または装置に配置するいずれかでペルチエ加熱構成要素を供給することにより、反応チャンバーを加熱する。消化後、そのディスクを1~30,000rpmの回転速度で回転させ、そしてキャピラリー電気泳動ユニットFに至る反応チャンバーEでの弁を開放することによって、その結果、ある量の反応混合物を電気泳動ユニットに移動させる。あるの消化DNAを電気泳動ユニットFに移動し、反応チャンバーEでの弁が開いている時間の長さとそのディスクが回転する速度の組合せによって、多量の反応混合物、特に10 $\mu\text{L}$ を測定する。以下、実施例11に記載されるとおり、キャピラリー電気泳動を完了し、そして光学的または以下、実施例2で記載された他の手段を用いて検出されるDNA種を分画する。

#### 実施例6

##### DNA合成

実施例1で上述のとおり記載されたディスクおよび装置を使用して、オリゴヌクレオチドDNA合成を行う。ホスホアミダイトDNA合成のために必要な試薬を含有する一連の反応チャンバーを通して制御多孔質ガラス (CPG) の段階的・移送によって合成は達成される。互

いに反応チャンバーに連結する片使用 (single-use) の弁によって、試薬およびCPGを反応チャンバーに順次配送する。各ディスクは、市販のDNA合成指示によって製造されるオリゴヌクレオチドの長さに類似する長さを示すオリゴヌクレオチド (すなわち、100-150塩基) を生成する多くの合成反応チャンバーを有する。ディスクの構造の概略図は、図23Aに示される。

検体流入ポートAに、使用者によるかまたは、自動化手段により、配列の第一の塩基を保持するCPG (したがって、オリゴヌクレオチドの3'伸長を特定する) を負荷する。その後、ディスクを1~30,000rpmの回転速度で回転させることによって、アセトニトリル ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) 中にトリクロロ酢酸 (TCA) を含有する反応チャンバーにCPGを移す。室温で、特定の時間間隔、特に1分間で、ヌクレオチドの脱トリチル化を行う。その後、小さすぎてCPGの通過はさせるが、TCA含有混合物を排除するのに十分な内径を有する弁を開くことによって、試薬を第一の反応チャンバーから分留する。脱トリチル化による塩基の脱保護は、着色産物 (オレンジ色) を生成することが知られているので、その強度は、反応の伸長の測定法であるので、この溶出剤の吸光度を測定するための光学的手段が装置のマイクロプロセッサ/メモリーに記録されることが有益に提供される。反応混合物を分留した後、 $\text{CH}_3\text{CN}$ を含有する洗浄チャンバ

ーでCPGを回転させ、必要に応じてチャンバーは、上述の混合手段を包含する。洗浄後、 $\text{CH}_3\text{CN}$ を上述のとおり、寸法選択的弁によって制御される流出リザーバーに分留し、そしてGPCを第二の反応チャンバーに回す。第二の反応チャンバー中でCPGと混合するのは、オリゴヌクレオチド鎖中の次の位置に対応する4つのホスホアミダイト (G、A、T、またはC) の1つを含有する溶液である。第二の反応チャンバー中の反応混合物を混合し、そして規定時間間隔、特に3分間反応させる。その後、上述のとおり反応混合物を分留し、そして $\text{CH}_3\text{CN}$ および混合手段を含む洗浄チャンバーでGPCを回転させる。洗浄後、 $\text{CH}_3\text{CN}$ を流出リザーバーに分留し、そしてCPGを、ヨウ素、水、ピリジンおよびテトラヒドロフランの酸化混合物を含む第三の反応チャンバーに回転し、ここで、反応混合物は規定の時間間隔、特に1分間インキュベートされる。反応混合



物を流出リザーバーに分留し、CH<sub>3</sub>CNを含有する洗浄チャンバーにCPGを回す。洗浄後、CH<sub>3</sub>CNを流出リザーバーに分留し、そして第四の反応チャンバーで、2つの成分「キャッピング」試薬といっしょにCPGを回転させる。規定の時間間隔、特に1分間、キャッピング反応を行う。反応が完了した後、反応混合物を流出リザーバーに分留し、CH<sub>3</sub>CNを含む洗浄チャンバーにGPGを回す。その後、CH<sub>3</sub>CNを流出リザーバーに分留し、そしてTCAを含む第五のチャンバーにGPGを回し、これは別のサイク

ルの始まりを包含する。予めプログラムされた配列が完全に合成されるまで、連続の一連の4つの反応チャンバーをとおしてCPGを移送することによって、サイクルを繰返す。その後、濃水酸化アンモニウムを含有する反応チャンバーにCPGを回し、そして規定の時間間隔、特に6時間で、60℃で加熱し、その間DNA分子は、CPG担体から脱保護され、そして切断される。完成したオリゴヌクレオチドは、使用者により、または自動化手段によって除去する。

ディスクは、互いに連結した一連の反応チャンバーを提供し、そしてそのオリゴヌクレオチド鎖に添加されるべきヌクレオチド当たり4つの反応および洗浄チャンバーを包含する。そのディスクは、特定のオリゴヌクレオチドを生成するのに負荷できるか、または各反応チャンバー2は、各々4つのヌクレオチド塩基を含有し、個別に制御できる弁によって反応チャンバーに繋がられた試薬リザーバーと接触していることができる。この具体例で、このサイクルの各段階で適切な弁の活用は、装置からの信号によって制御される。ディスクは、多重なこれらの合成的配列を備える。複数のオリゴヌクレオチドの同時合成をさせることも提供される。多重なオリゴヌクレオチド合成のために配列されたディスクの概略図を図23Bに示す。

図23Aで概略的に図示されるとおり、ディスクの周囲に向かって反応チャンバーに含まれる予め負荷したC

P Gで、他用途の二方向弁を使用することによって配送される試薬により、DNA合成を行うこともできる。これらのディスクでは、120mmの直径を示すデ

ディスクの中央に150  $\mu\text{m}$ で間隔を空け、1250の反応チャンバーと同じ程度に多く、100 nLを含むことが可能な反応チャンバーが製作される。ディスク上で試薬チャンバーを供給するのに十分な用量を含む試薬リザーバーを、予めホスホアミダイト、 $\text{CH}_3\text{CN}$ 、TCA、酸化剤およびキャッピング試薬で満たす。トリチル付加CPGまたは反応チャンバーに直接結合したリンカーを、同様にディスクに予め付加する。マイクロリットル量の試薬は、各反応に十分である。TCAを各第一反応チャンバーに回し、そして規定の長さの時間、特に1分間反応させ、その後ディスクの周囲に流出（廃棄）チャンバーに回転させる。 $\text{CH}_3\text{CN}$ 洗浄は、各反応チャンバーに回し、そしてその後廃棄する。選択的弁を活用することによって、A、C、GまたはTホスホアミダイトを、その塩基を必要とする反応チャンバーに回し、そして規定の時間間隔、特に3分間反応させ、そしてその回転したものを除く。 $\text{CH}_3\text{CN}$ 洗浄は、各反応チャンバーに回し、そしてその後廃棄チャンバーに回す。酸化剤混合物は、各反応チャンバーに回し、規定の時間間隔で、特に1分間反応させ、その後廃棄する。別の $\text{CH}_3\text{CN}$ 洗浄は、各反応チャンバーに回転させ、そしてその後廃棄する。2成分のキャッピング試薬を各反応チャンバーに回転させ、規定の時間間隔で、特に1

分間反応させ、その後廃棄する。各サイクルについて、最終 $\text{CH}_3\text{CN}$ 洗浄は、各反応チャンバーに回転させ、そしてその後廃棄チャンバーに回す。各オリゴヌクレオチドが完全に合成されるまで、予めプログラムされた数のサイクルで、そのサイクルを繰り返す。その後、濃水酸化アンモニウムを反応チャンバーの各々に回し、そして規定の長さの時間で、特に6時間反応させ、そしてその支持体から完全なDNAを脱保護し、切断するまで60℃で反応させる。その後、手動または自動手段により、DNAを除去できる。反対に、CPG支持体とのオリゴヌクレオチドの結合は、水酸化アンモニウムの作用に抵抗するように選択され、その結果、脱保護オリゴヌクレオチドは、CPGに結合した反応チャンバーに残る。

ペプチド合成ディスクも提供できる、それによって、上述のとおり、試薬リザーバーおよび反応チャンバーの配列は、ペプチド合成様式を含む合成反応に適合される。

## 実施例7

## 酵素的DNAシーケンシング

上記実施例1に記載されたとおりに製造したディスクを用いて、sangerの酵素的シーケンシング法によってDNA断片のヌクレオチド配列を測定する（図24参照）。検体流入ポートに手動で、または自動工程で、鋳型DNA（2.50mL中200pg）および100フェムトモルの適切なプライマーを滴定する。その後、ディスクを1～30,000rpmの回転速度で回転させ

ることによって、終止溶液（すなわち、ジデオキシ形態のヌクレオチドG、A、TまたはCを含む溶液）を含有する混合チャンバーにDNAを移動させる。終止溶液は、一般に、各デオキシヌクレオチド5ピコモル、1つの蛍光標識に共有結合的に結合したジデオキシヌクレオチド0.5ピコモル、90mMトリス-HCl（pH7.5）、45mM MgCl<sub>2</sub>および110mM NaClを含有する溶液100mLを含む。ディスクを1～30,000rpmの回転速度で回転させ、反応チャンバー内に、26mMトリス-HCl（pH7.5）、1.3mM MgCl<sub>2</sub>、32mM NaCl、および6mM DTTである最終濃度の緩衝液成分を示す反応混合物を生成することによって、その混合チャンバーの内容物を、0.1単位のT7 DNAポリメラーゼ（または、代わりに0.1単位のTaqポリメラーゼ）および2.0nLの0.1Mジチオスレイトール（DTT）を含有する反応チャンバーに移す。ディスクに不可欠な、または代わりに、反応チャンバーを特異的に加熱する装置内に位置づけられる抵抗加熱構成要素によって、反応チャンバーを37℃に（または、代わりに、Taqポリメラーゼについては65℃に）加熱し、そして規定の長さの時間、特に1分間インキュベートする。反応産物を、等量の90%ホルムアミド/EDTAに回し、90℃で1分間加熱し、そしてディスク上のキャピラリー電気泳動ユニットに回す。その後、キャピラリー電気泳動により、反応混合物を含

む一組のジデオキシヌクレオチド末端DNA断片を分離し、そして上述のとおり、断片の配列をレーザー誘導蛍光検出によって測定する。多重のこれらの合成配

列を包含し、複数のジデオキシヌクレオチド末端オリゴヌクレオチドの同時合成をさせるディスクも提供される。推定ヌクレオチド配列を、検出される蛍光シグナルのパターンから測定し、そして検出された蛍光シグナルのパターンおよびこれらのデータから装置マイクロプロセッサにより誘導された配列から測定する。

#### 実施例 8

##### 液層合成および分析

実施例 1 に記載のディスクを使用して、様々な比色化学分析を行う。例えば、標準比色試験を用いて、試験溶液（工業流出物のような）中の鉄濃度を測定する溶液アッセイを行うためのディスクを提供する（図 25 参照）。40  $\mu$ L の 12 N HCl、10.0  $\mu$ L の 10% 塩酸ヒドロキシルアミン、100  $\mu$ L のクエン酸ナトリウム緩衝液（pH 4）および 50  $\mu$ L の 0.02% 1, 10-フェナントロリンを含有する試薬リザーバーを有する装置を作製する。試薬リザーバーは、図 25 に示されるとおりに配列し、その結果、これらの試薬は、各試薬リザーバーからの流れを制御する弁を開放することによって、連続的に反応チャンバーに添加される。反応チャンバーへの試薬移送は、実施例 1 のディスクを 1~30,000 rpm の回転速度で回転することによって達成され、

それによって、求心力は、各試薬溶液をそのリザーバーから反応チャンバーに移動させる。図 25 に示されるとおり、検体ポート（A）を通して、検体を導入し、そして反応チャンバーに毛管現象的に配送される。HCl を含有する試薬リザーバー（B）に対する弁を開放し、そしてその検体に酸を添加する。検体を 10 分間インキュベートし、存在する全酸化鉄を溶解させる。塩酸ヒドロキシアミン（リザーバー D）およびシトレート（リザーバー E）をさらに反応混合物に添加する。反応混合物を 20 分間インキュベートし、鉄 111 から鉄 11 の完全な還元を確保する。次に、1, 10-フェナントロリンをリザーバー F から複合体鉄 11 に、そして着色生成物から移行させる。その溶液を 30 分間、30℃でインキュベートして、色の発色を完成させる。インキュベーション工程後、弁 G を通して反応チャンバーに繋がっている「読取り」セル（G）で 520 nm での比色測定を行う。



## 実施例9

## 固層（表面／コロイド）合成／分析

実施例1に記載されたとおりに製造し、そして図26に示されるディスクを用いて、オリゴヌクレオチド、一本鎖DNAあるいは二重らせんDNAを、反応性粒子（ビーズまたは磁性粒子またはクロマトグラフィ用物質のような）と共有結合的に結合させる。例示具体例で、検体導入ポートを通して、25  $\mu$ L アリコート量のカル

ボキシル活性化磁性粒子（マサチューセッツ州、フラミンガム (Framingham, MA) のプレセプティブ・ダイアグノスチック (PerSeptive Diagnostics)、バイオマグ (BioMag) 4125) をそのディスクに加える。流出または廃棄リザーバーに弁を通して元の溶液を分留することによって、その粒子を、開始溶液から50  $\mu$ L の0.1 M イミダゾール (pH6) に移し、それによって、その弁は、反応チャンバーから磁性粒子の損失を防止するために作製される。その後、イミダゾール溶液を、ディスク上のイミダゾールリザーバーから粒子反応チャンバーに添加し、イミダゾールの移送は、弁によって制御される。元の磁性粒子溶液を分留し、そしてイミダゾールをイミダゾールリザーバーから粒子反応チャンバーに移送する両方の動力は、ディスクを1~30,000 rpmの回転速度で回転することによって提供される。特に、図26に関しては、ディスクが回転するとき、高密度磁性粒子は、反応チャンバーの端で漏斗でペレットとして生じ、沈殿して廃棄される。その後、0.1 M イミダゾール50  $\mu$ L を含有するイミダゾール試薬のチャンバーを制御する弁を、その粒子の上であるが分留レベルの下で開放し、そしてその粒子を弁を通して、反応チャンバーに、そして次の分留リザーバーに移行させる。この分留工程は、所望の組成物に液相での変化を及ぼすまで多数回繰り返すことができる。特に、3回の交換が十分である。代わりに、一団の試薬リザーバーから、または代わりに、交

換の全サイクルに十分なイミダゾールを含むのに十分に大きな単独の試薬リザーバーから、イミダゾールを制御して添加および除去することによって、試薬およ

び反応チャンバーの適切な配置は、磁性粒子を単独の反応チャンバーに交換させる。

交換サイクルが完了したのち、磁性粒子を、250  $\mu$ gの乾燥1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDAC)を含有する次の反応チャンバーに移行させる。試薬リザーバーは、EDACを溶解するために粒子を添加する前に、50  $\mu$ Lの0.1Mイミダゾール溶液中に170 OD (170 ng)の5'アミン化DNAオリゴヌクレオチドを含有する。その後、粒子を約100  $\mu$ Lの0.1Mイミダゾールに弁を通して添加する。磁性粒子を反応チャンバーに添加して、装置を止めて、そして6時間、40℃でインキュベートする。加熱は、そのディスクに具備されるか、または反応チャンバーの特定の発熱をさせる配置で装置に位置づけられる熱源(ペルテエ加熱装置のような)によってもたらすことができる。後者の代替として、ディスクは、反応チャンバーの熱の特異性を確保する装置に基づいて、予め決められた位置で停止させる。

インキュベーション後、粒子を洗浄し、そしてディスクが回転しているとき、上述のとおり分留することによって、100  $\mu$ L部の水に交換する。3回の交換は、一般に粒子を精製するために行われる。生成物は、連続使用

に簡単に近づくことができるディスクの先端で都合よく収集される。多重のこれらの合成配列を含み、そして複数の粒子様オリゴヌクレオチドの同時合成をさせるディスクも提供される。

#### 実施例10

##### 微量抽出システム

HPLCまたは他の従来の生化学的分離法に代わる、溶液から溶解物を、または混合物の成分を微量抽出する実施例1に記載されたディスク(図27参照)。特に、ディスクにチャンネルを、混合物の成分、特に複合体化合物または生化学的混合物についてアフィニティーを示す表面を付与する標準手段によって化合物(オクタノールのような)で被覆する。シリコン製ディスクで、例えば、チャンネルの表面を、95℃で、1時間、水性エポキシシランでチャンバーを満たすことによって活性化する。ディスクを約5回、蒸留水で洗浄して、未反応のシランを除去

し、そしてアミノオクタンを溶媒に加え、95℃で、1時間インキュベートし、続いて溶媒洗浄して、未反応のオクタンを除去する。

溶融すべき成分を含有する検体混合物を注入ポートに添加し、そしてディスクを1~30,000rpmで回転させることによって被覆された分離チャンネルによって移動する。試薬リザーバーを、チャンネルの入口で開放し、そして収集リザーバーに対する被覆チャンネルに保持された検体を溶出するのに使用する。その後、分離検体成分

を、出口ポートで収集する。

#### 実施例 1.1

##### 自由領域キャピラリー電気泳動

上記実施例1に記載されるとおり作製され、図2.8に概略的に表されたディスクで、自由領域キャピラリー電気泳動を行う。特に、 $5\mu\text{m} \times 7.5\mu\text{m} \times 2.5\text{mm}$ キャピラリー（毛管）（それは、全ての面がディスクの毛管のような成分を作製するときに限られた精度内で隣接することが認識される）は、ガラスディスク上で平板印刷でエッチングされる。電気的接点は、装置の頂部を封印するまえに、白金を、ガラスの非エッチング表面に載せることによって、標準法を用いて作られる。分離チャンネルは、1.5mm検体導入チャンネルによって横切られ、緩衝液リザーバーから3mm離れて位置決めされる。目的のチャンネルは、一方の末端に検体入口ポートを、そしてその毛管に対する検体使用を制御するいずれかの末端に電気的接点を有する。

ディスク上のキャピラリー電気泳動の実施で、ディスクを1~30,000rpmの速度で回転することによって、分離チャンネルは、緩衝液リザーバーから充填される。いったんチャンネルが充填されると、圧力が再度チャンネルにかけられる必要があるまで、回転を止める。チップ上の横切る分析物入口および分析物出口チャンネルの間に電圧を加えることによって、検体を導入する（図28参照）。分離チャンネルポートが浮いている間、50V電位

の滴を、検体入口と出口ポートの間に載せる。検体は、5mM EDTA、1m

Mg<sup>2+</sup> および1mM Ca<sup>2+</sup> を有する2mMトリスHCl (pH8) (特に、塩化物塩から製造される) の溶液を含む。流れの中の緩衝液は、10mMトリスHCl (pH8)、5mM EDTAを包含する。その後、検体リザーバーに電位をかけ、そして分離チャンネルに沿って250Vをかけることによって、カソードに向かう分離を行う。入口ポートから2cmの位置で、例えばUV光源(水銀灯) および光ダイオード検出器を用い、目的の毛管チャンネルに装置を位置決めして、254nmでのUV吸収を観察することによって、分離を観察する。

## 実施例12

### DNA電気泳動

上記実施例1に記載のとおり作製されたディスクで、ゲル電気泳動を行う。この用途について、分離チャンネルに、ゲル媒体を作製する。しかし、このようなゲル媒体は、検体または緩衝液を電気泳動チャンネルに移行させる間に、ディスクを回転して展開するシャーフースから保護すべきである。したがって、図29に概略的に示されるとおり、ゲル充填毛管は、ディスク上に連結して都合よく配列される。結果として、ゲルは、流体リザーバーが、ディスクの回転中に毛管と接触している場合に、回転中に求心力を誘導する圧力から剪断力を受けるのみである。残りで、ディスクの平面幾何は、キャピラリー

上で流動力学的圧力を防ぐ。これは、標準キャピラリー電気泳動システムより有利である。ここで、緩衝量が、各流れより前に注意深く調節される流動力学的流れを避ける必要のあるリザーバー高である。流動力学的圧力が制御するのがそれほど容易でない。これも、緩衝液リザーバーが分離チャンネルの平面上に位置づけられ、それによって、流動力学的圧力のかかった流体流れに影響されやすいマイクロチップ上で行われる電気泳動より本発明のディスクで行われるキャピラリー電気泳動が優れている。

本発明のディスクで、ゲル電気泳動を行い、二重らせんPCR断片、オリゴヌクレオチドおよび一本鎖、デオキシヌクレオチド末端酵素的DNAシーケンシング成分を含めたDNA断片を分離する。そのシステムは、図29に示されるとおり作製される。ディスクに微量エッチングした分離チャンネルに集中して配列される



ポリアクリルアミドゲルを具備するディスクを製造する。7 M尿素、45 mMトリス・ボレート緩衝液 (pH 8.3)、1 mM EDTA、9 %アクリルアミド、0.1 % TEMED および 10 % 過硫酸アンモニウムの未重合化溶液から、ポリアクリルアミドゲルを製造する。成分 (ここで、未重合化重合ポリアクリルアミドが、貯蔵で光触媒重合化に影響されやすいことが認識される) を混合し、特に TEMED および 過硫酸アンモニウムをその混合物に導入することによって、分離チャンネル中で、ディスクを製造

できる。混合チャンバーから分離チャンネルに弁を開け、そしてディスクを 1 ~ 30,000 rpm で回転させることによって、分離チャンネルに十分なゲル混合物を加える。ゲル重合化をさせる分離チャンネルを充填することによって、ディスクを止める。重合が完了する直前に、弁によって制御されたチャンネルの出口側で、大きな緩衝液リザーバーから得られる緩衝液をチャンネルに流し出すことによって、気泡および未重合のモノマーを除去するために出口チャンネルを流し出す。ゲルの入口側で同様の工程が行われる。

DNA 検体を導入するために、DNA 断片の溶液を維持する入口ポートから弁を開放するか、または代わりに、検体をディスク上に直接ピペットで取る。ディスクを 1 ~ 30,000 rpm で回転させ、検体および緩衝液を緩衝液で充填したチャンネルに移行させることによって、分離チャンネルに検体を載せる。検体を分離チャンネルおよび検体入口チャンネルに導入する上で、従来のスラブゲル電気泳動の間、検体の濃度で類似する分離マトリックスを入れる前に、検体を、ゲル/緩衝液界面で濃縮する。DNA 断片を分離する効果のある 250 V/cm で電気泳動を行い、カソード (陽電極) が、検体入口チャンネルにチャンネル末端の出口末端に位置決めされる。レーザー導入蛍光検出器は、実施例 2 に上述のとおり、標識 DNA 断片を検出するゲル充填キャピラリーチャンバーの出口に位置づけられる。

### 実施例 13

#### 分光光度計経路長さの延長

本発明の回転構造についての分光光度測定は、ディスクの横断寸法を横切る分光光度照明によって供給される相対的に小さな経路の長さに限定できる。溶液の吸光度の強度は、吸収層の深さ、ならびに（ランバートービール法で記載されるとおり）吸収分子の濃度に依存する。

本発明の回転するマイクロシステムプラットホームでの測定セルは、短い横断経路の長さを表すが、ディスクを通した外側の経路の長さは、広範囲（すなわち、センチメートル対ミリメートル）でありうる。外側面で検出チャンバーを通して光を導入することによって、分光測定が増大できる。

外側面に横断照射を提供する1つの配列は、図16に示される。ディスクに対して垂直方向に光があてられる。照射ビームの方向に対して鏡を45°の角度に位置決めし、それによって、光は、検出チャンバーを通して外側に向けられる。光は、検出セルを通して通過し、光ダイオードまたは光電子増倍管のような光感受性検出器に、別の45°の鏡で反射される。これらの鏡は、ディスクに挿入でき、ディスクに完全に成形されるかまたはプラスチックまたはディスクを構成する他の物質で表面加工できる。

#### 実施例14

##### 細胞計数、同定および観察

生物学的検体中の特定の細胞または細胞型を同定するための方法を提供する。例えば、表面を、大腸菌に特異的なモノクローナル抗体で吸収的に被覆させた表面を有して本発明のマイクロプラットホームを製造する。残りの部位は、BSAで保護される。ディスク上に、牛乳検体が導入され、そしてその抗体で被覆された表面を有する反応チャンバーと接触して載せられる。牛乳は、このチャンバーで30分間インキュベートされる。その後、マイクロシステムプラットホームを回転させて、望まれない材料を除去する。マイクロシステムチャンバーを洗浄するのに適切な量の緩衝液を、洗浄緩衝液を含むリザーバーからマイクロチャネルを通して表面またはチャンバーに加えられ、上述の緩衝液は、遠心力およびマイクロ弁の開口部によって放出される。有用な具体例では、洗浄緩衝液は、酵素（ペルオキシダーゼのような）に架橋された大腸菌－特異的モノクローナル抗体を包

含する。その後、インキュベーションは、5分間行われる。適切なマイクロ弁の開口部でディスクを再度回転して、洗浄溶液をチャンバーから除去し、そして酵素的物質（テトラメチルベンジジンおよび過酸化水素）を含有する溶液を添加し、以降マイクロ弁で制御された微小チャネルによって反応チャンバーに連結した試薬リザーバーに保持する。反応チャンバーに結合した大腸菌の量は、検出された酵素活性の量について定量され、光吸収産物の存在または光吸収物質の不存在によって分光光学的に測定され

る。

以上の開示は、本発明のある特定の具体例を強調するものであって、それに等価な全ての修飾または改変は、本発明の概念および範囲にあると理解すべきである。

【図1】

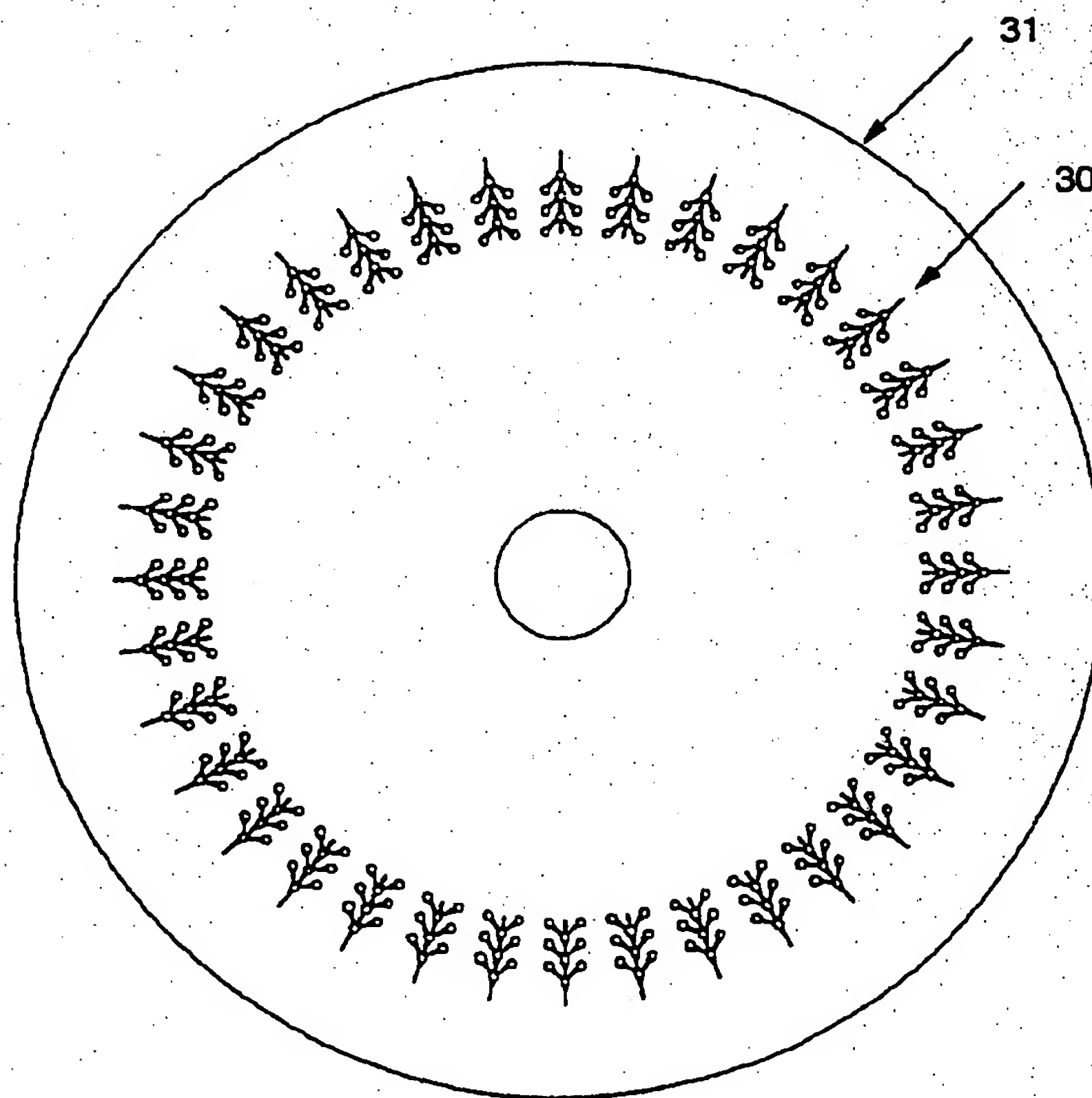
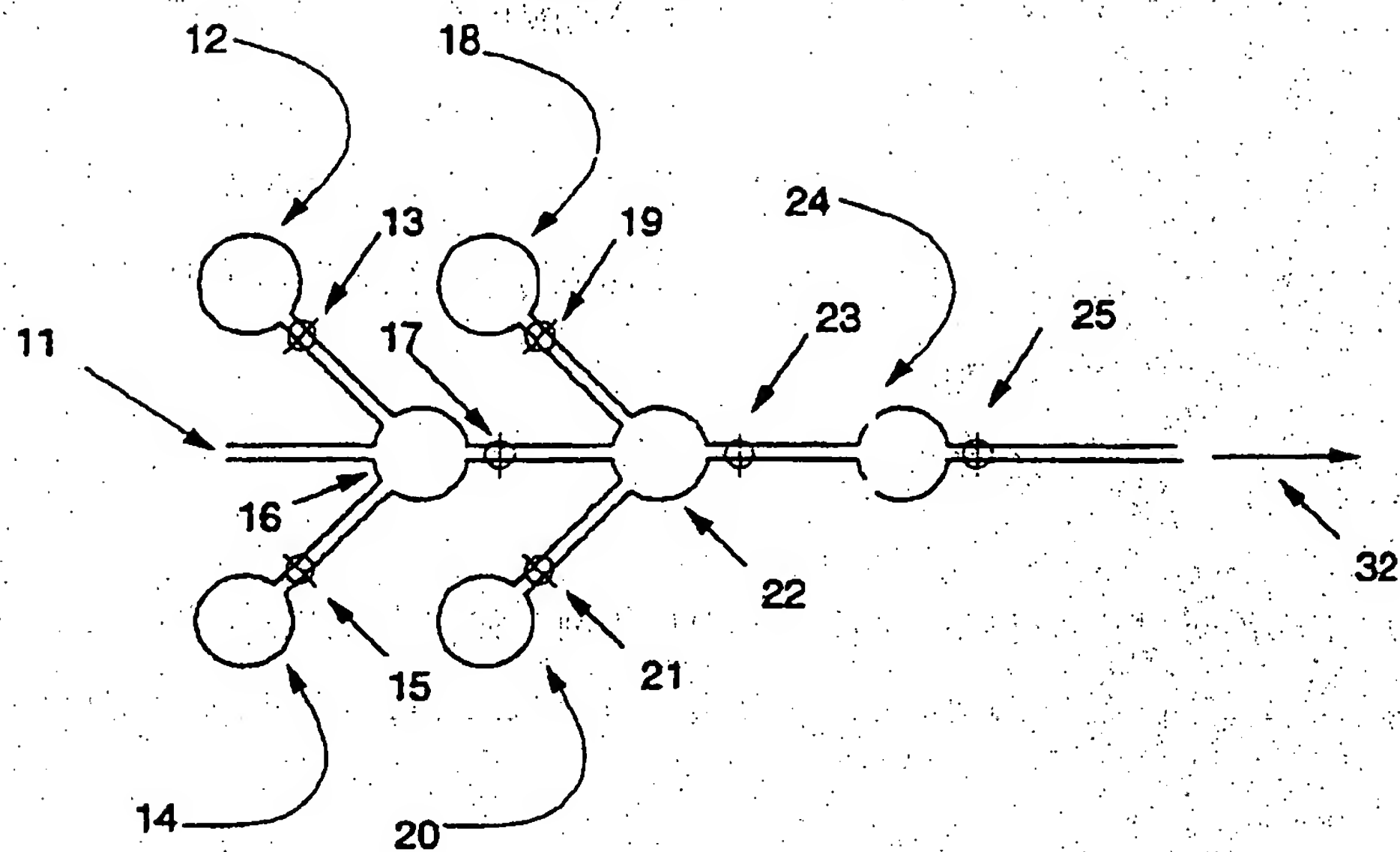
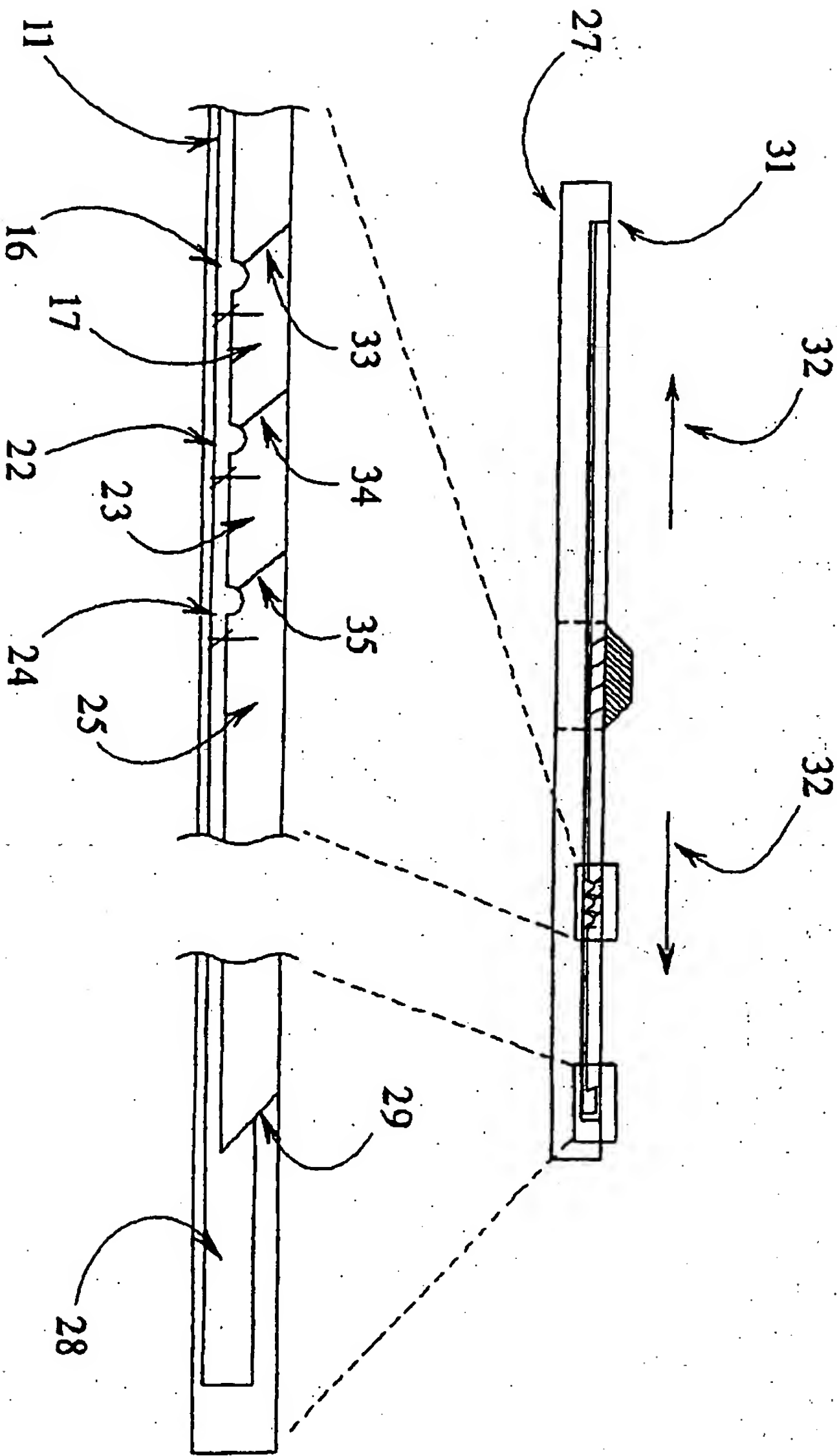
FIG. 1AFIG. 1C

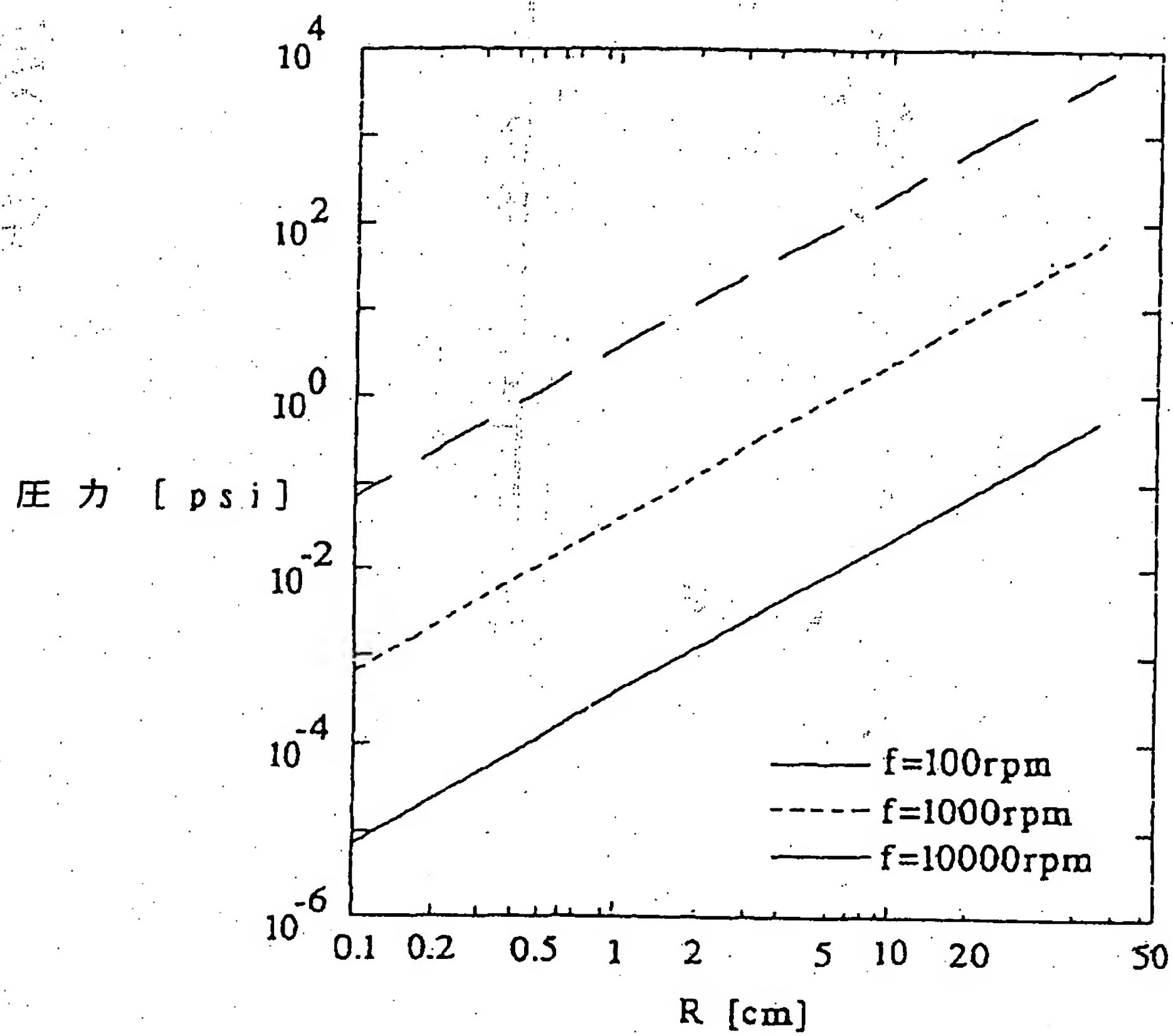


FIG. 1B



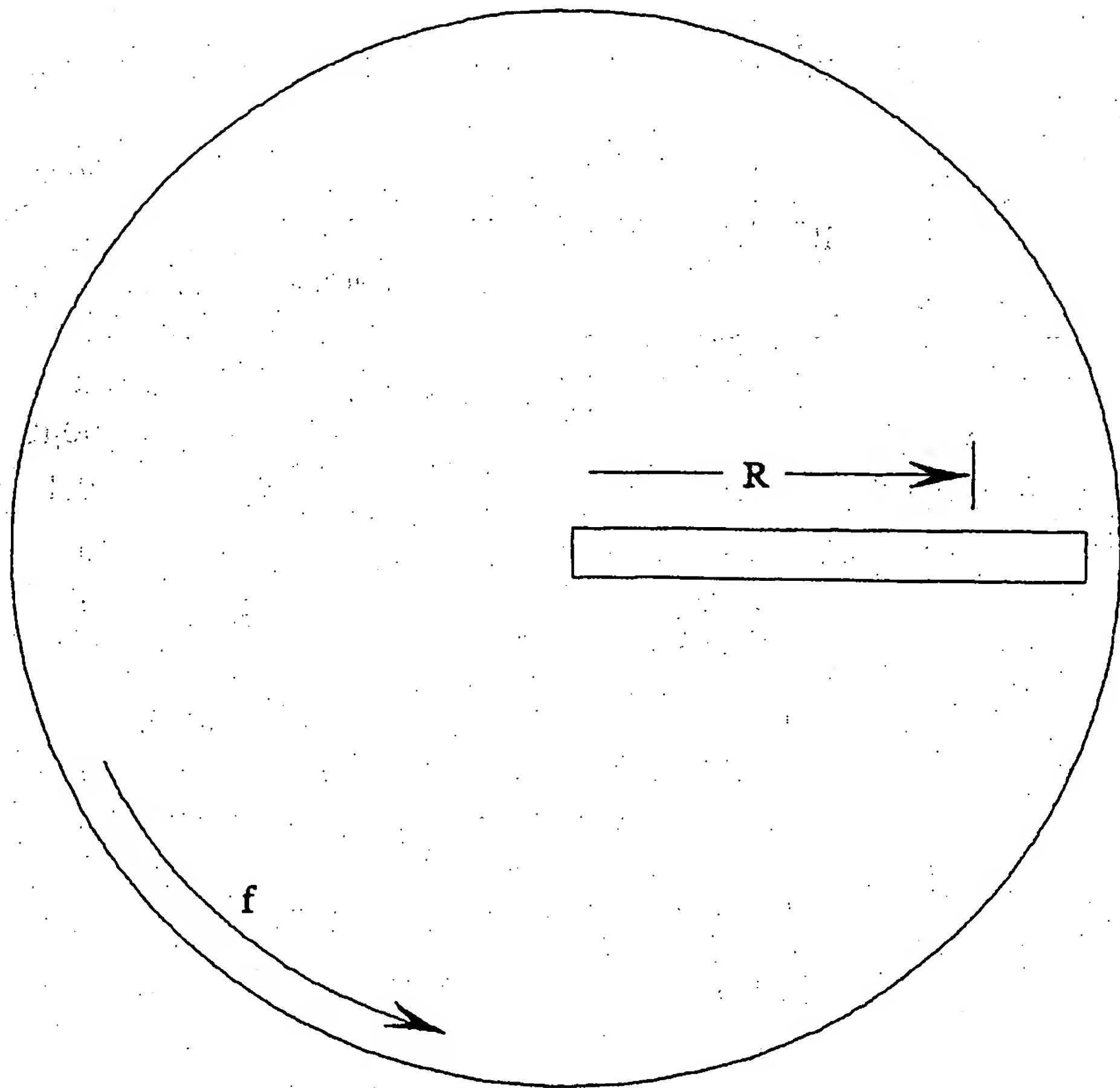
【図1】

【図2】

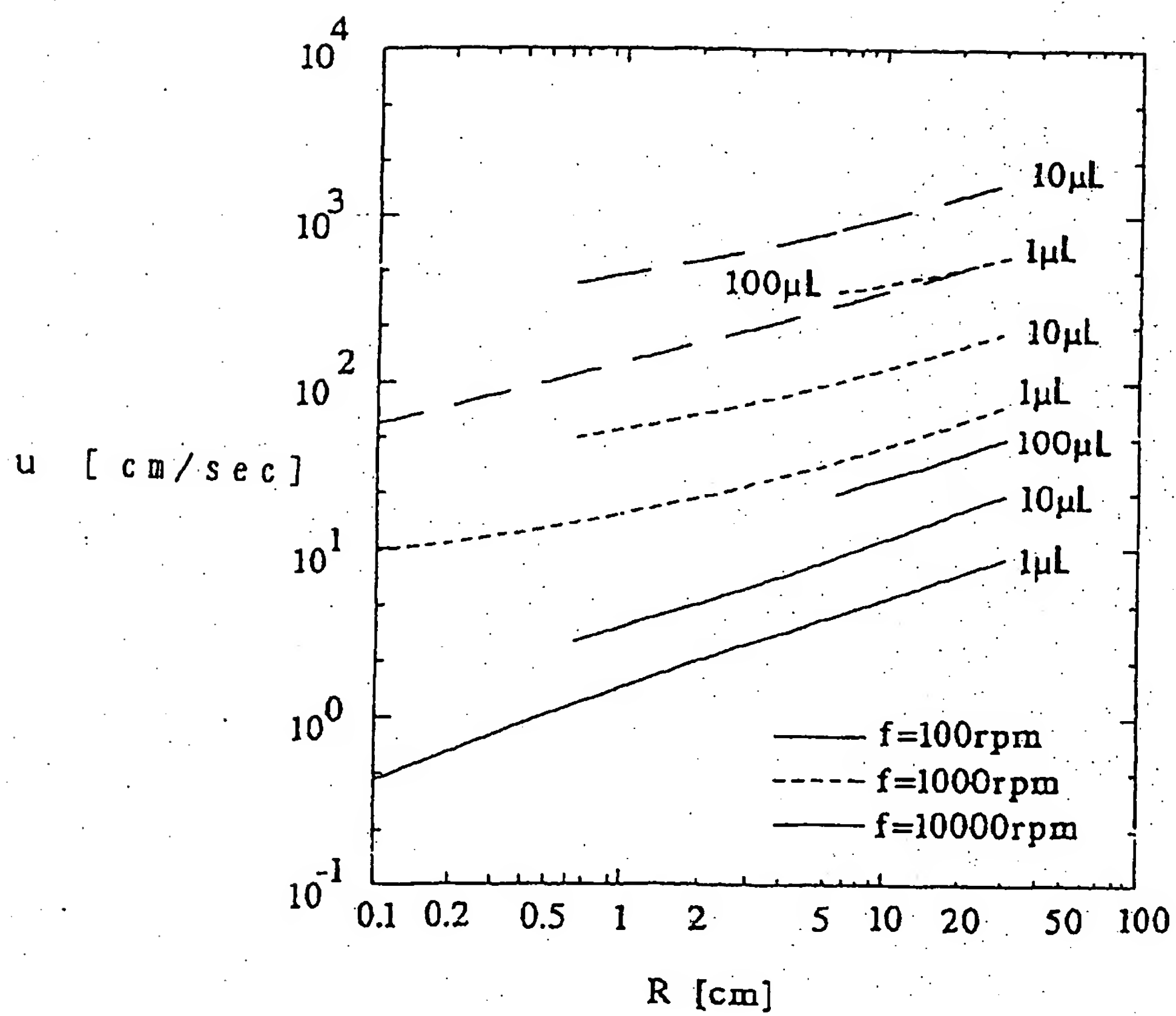
FIG. 2A

【図2】

FIG. 2B

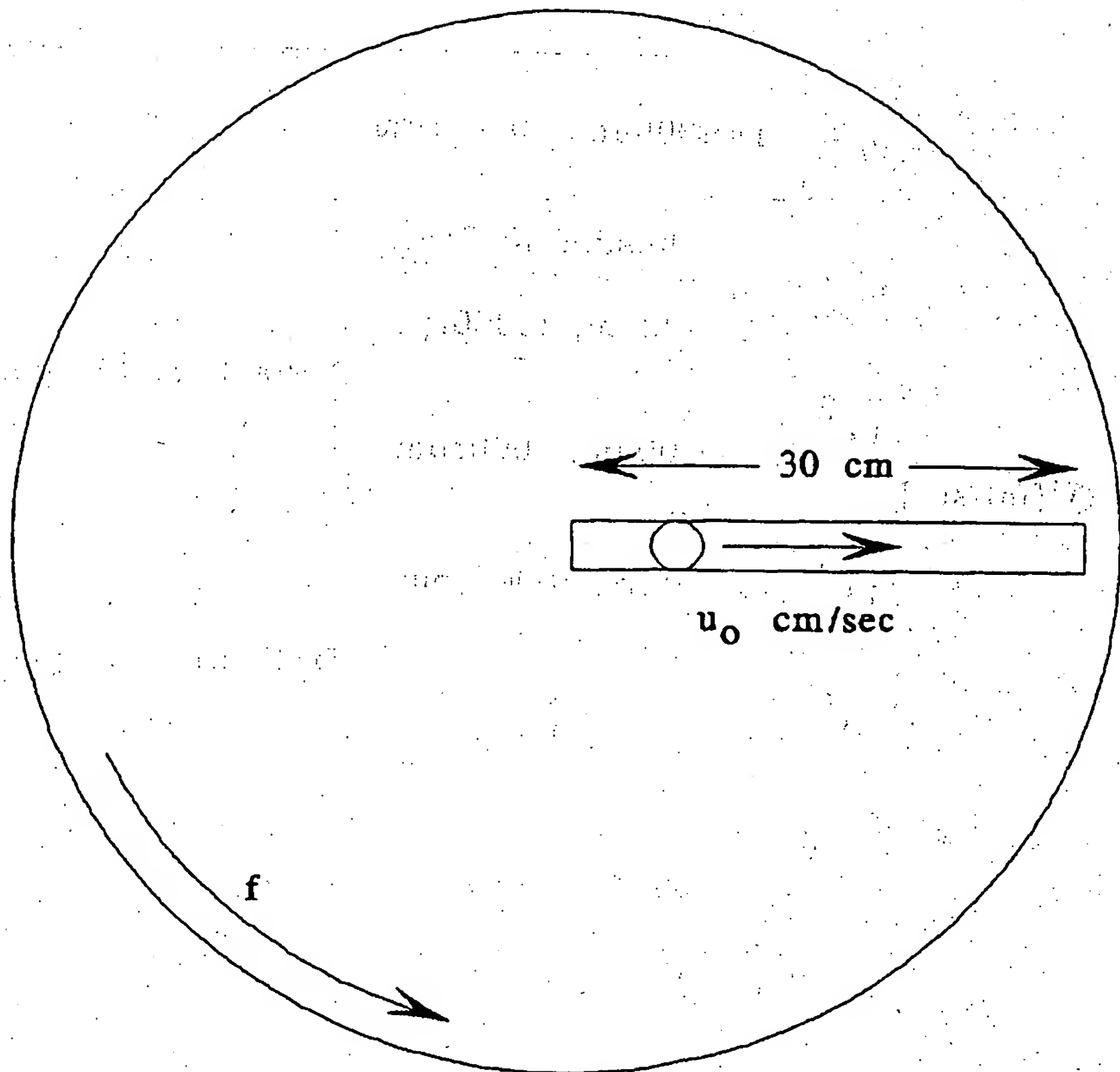


【図3】

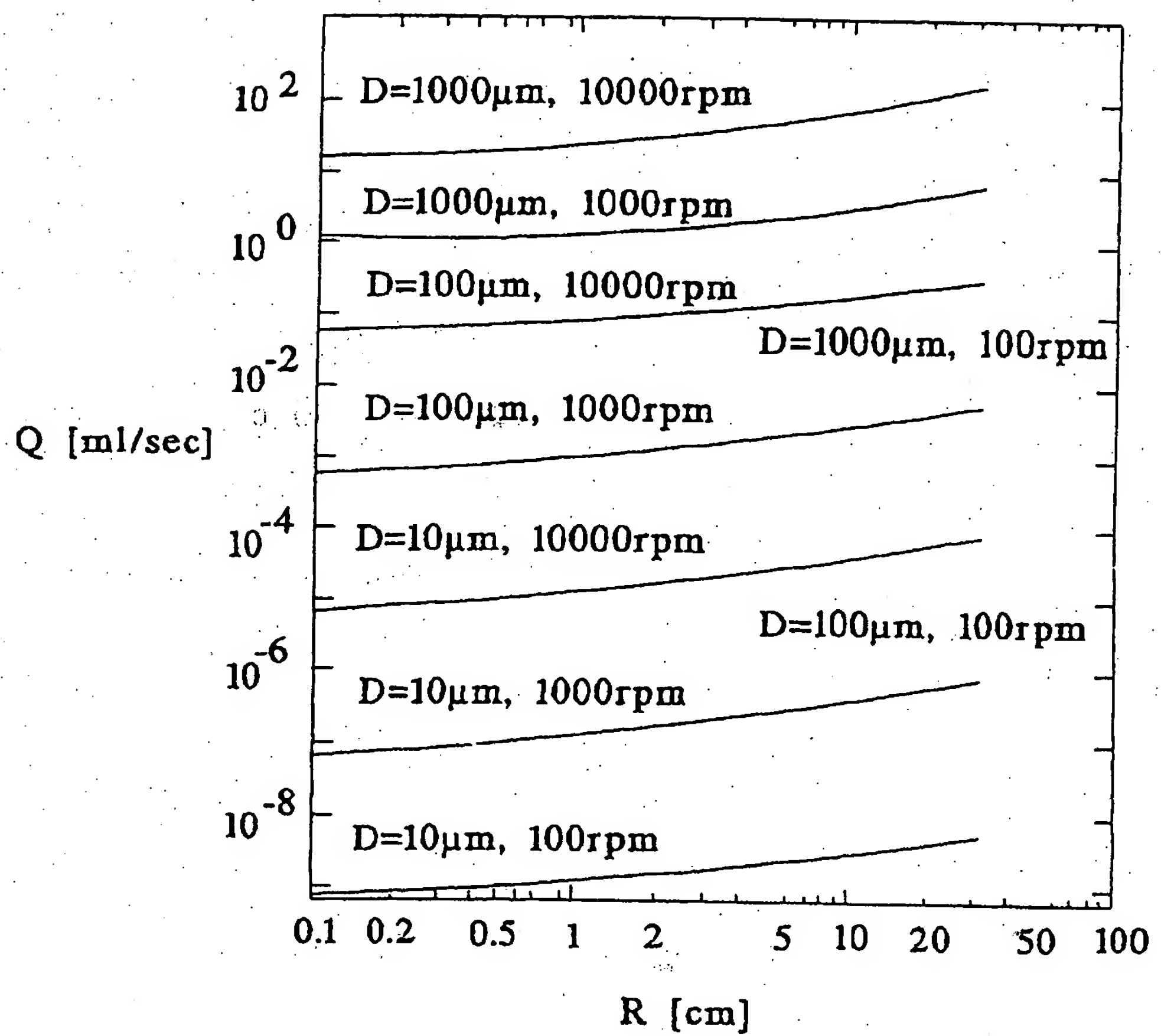
FIG. 3A



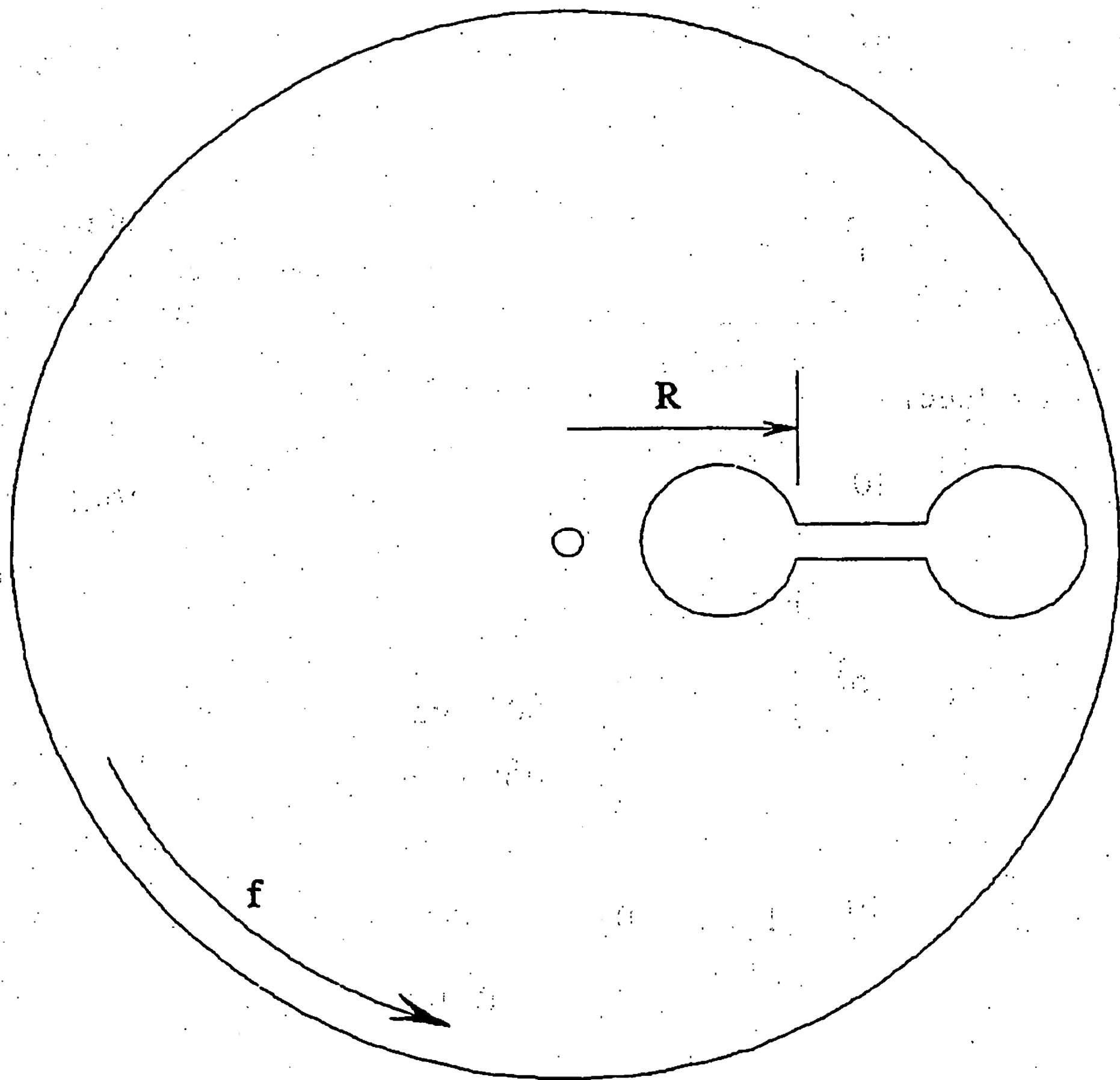
【図3】

FIG. 3B

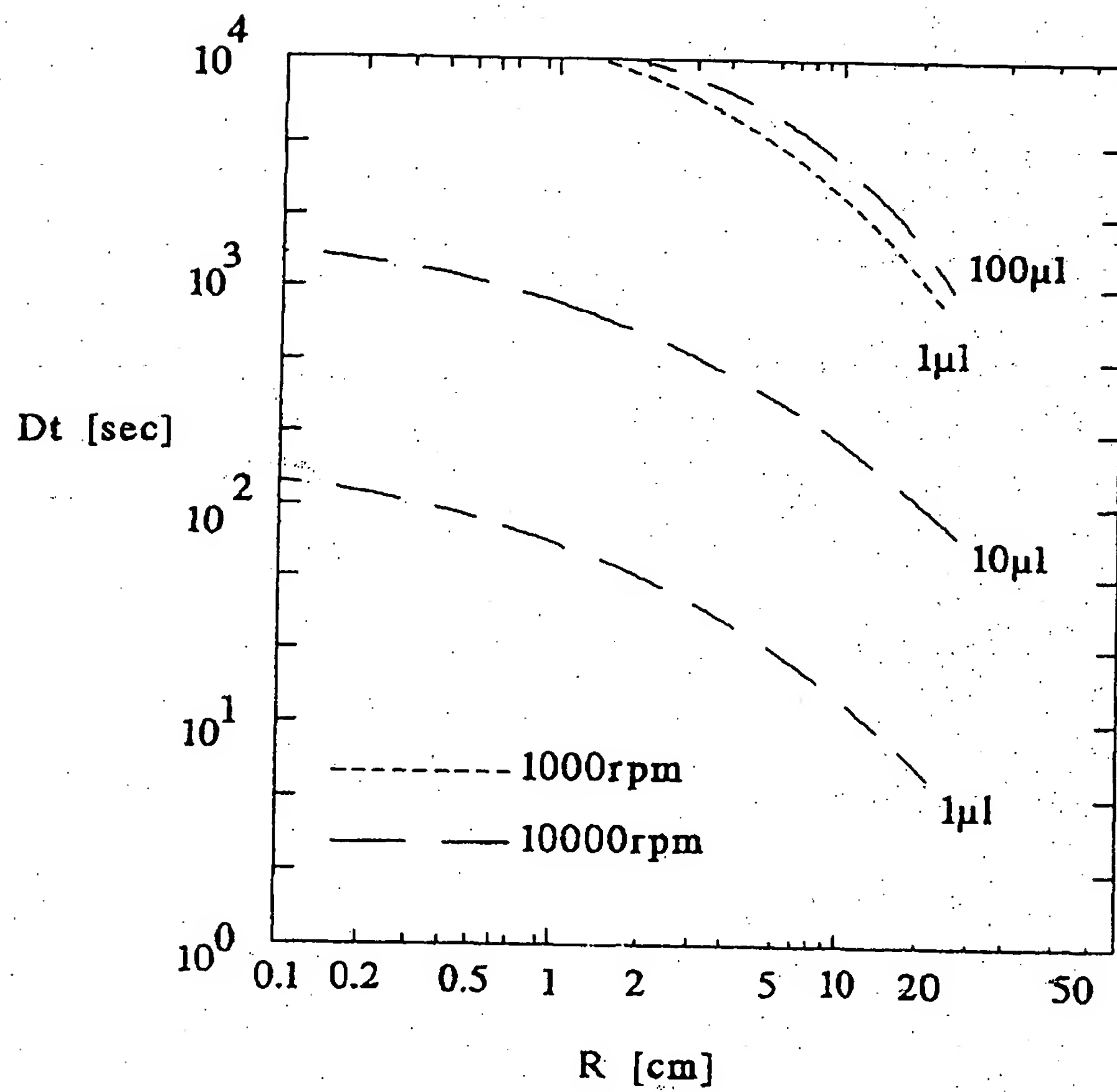
【図4】

FIG. 4A

【図4】

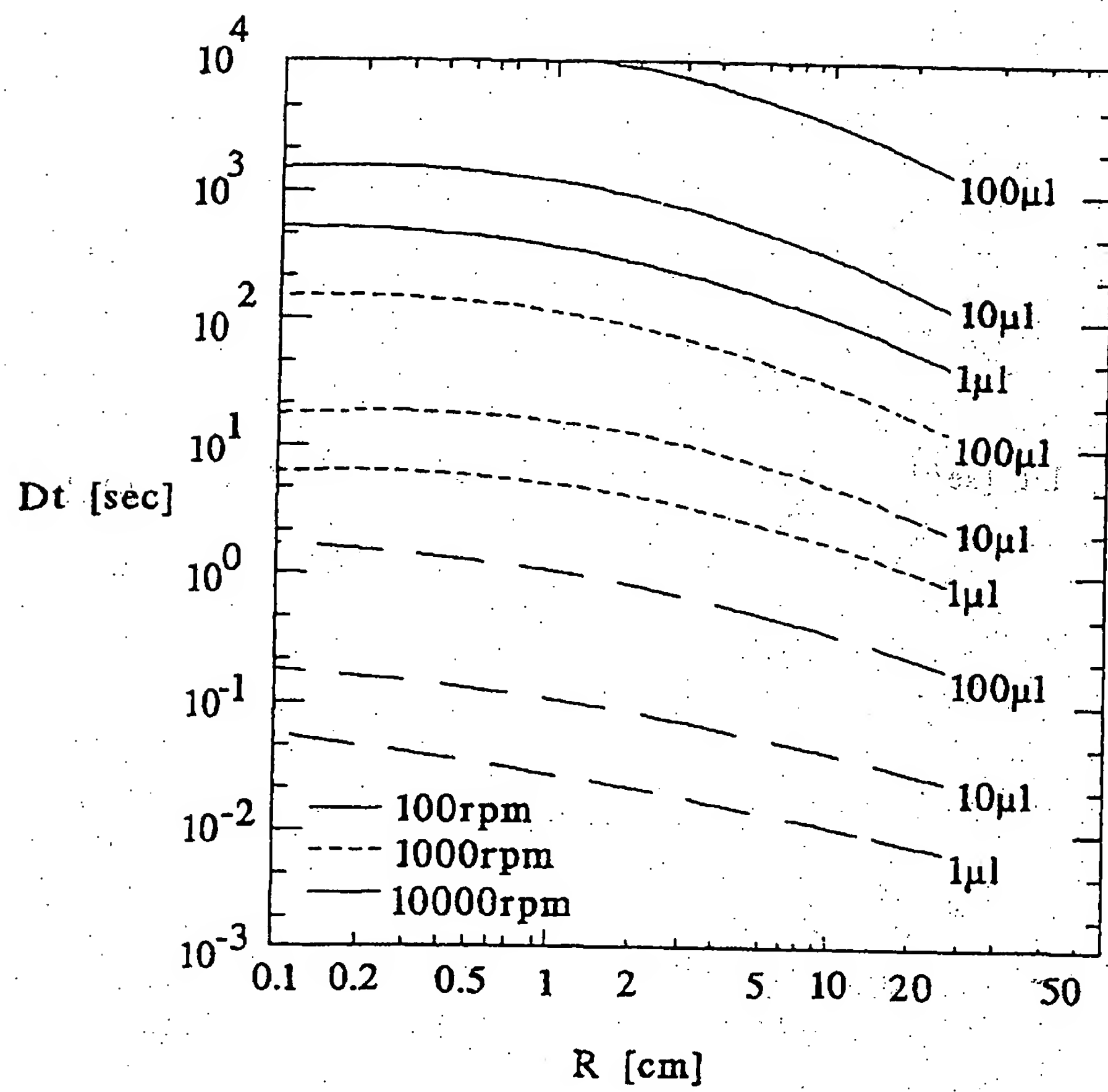
FIG. 4B

**FIG. 5A**

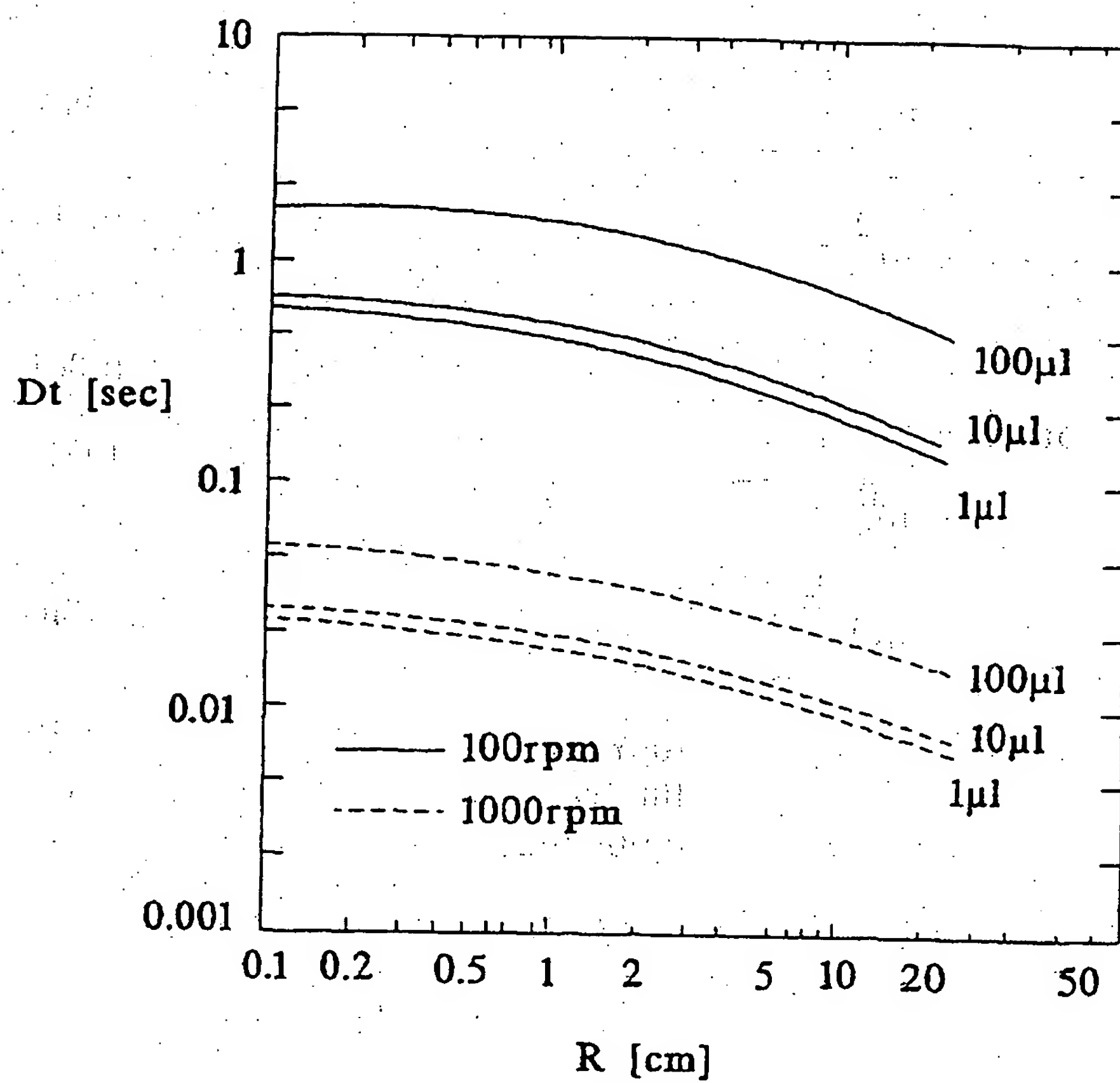




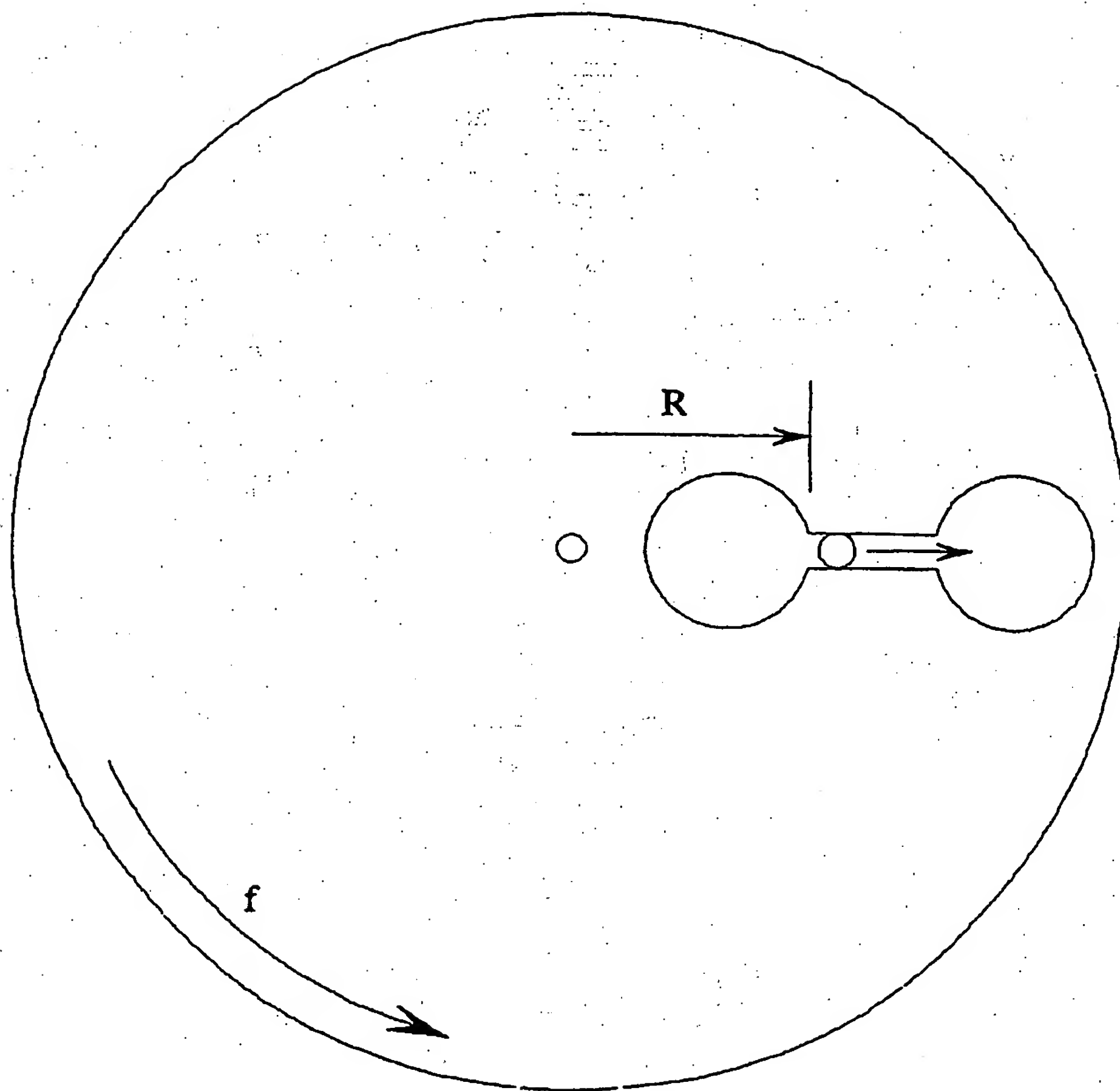
【図5】

FIG. 5B

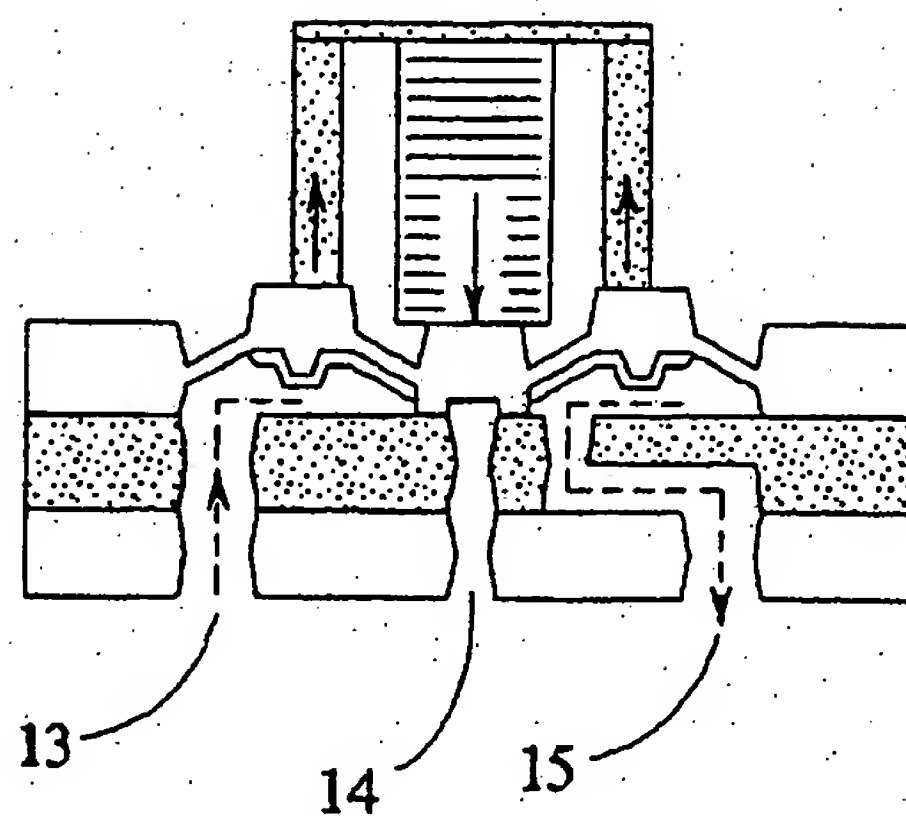
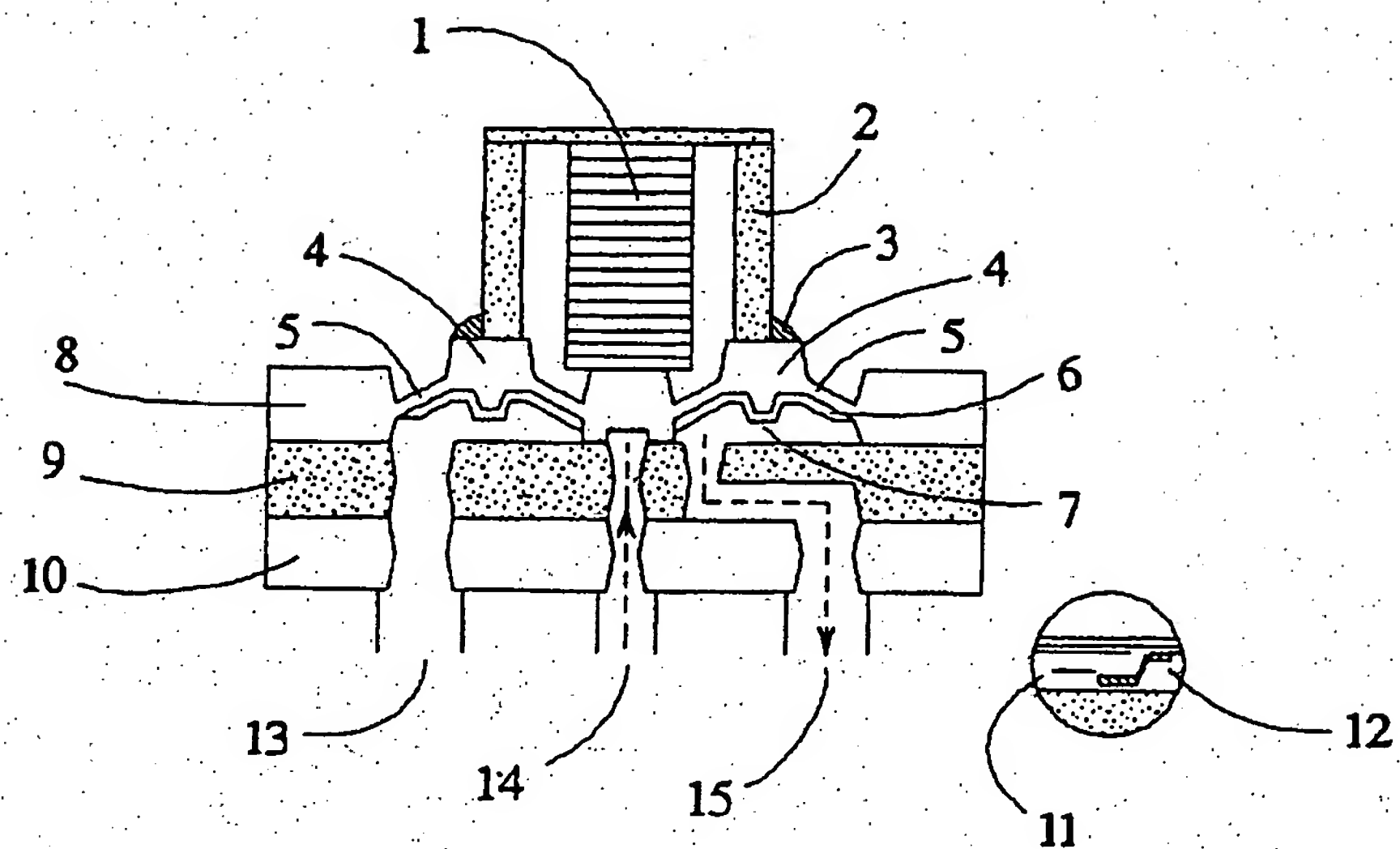
【図5】

FIG. 5C

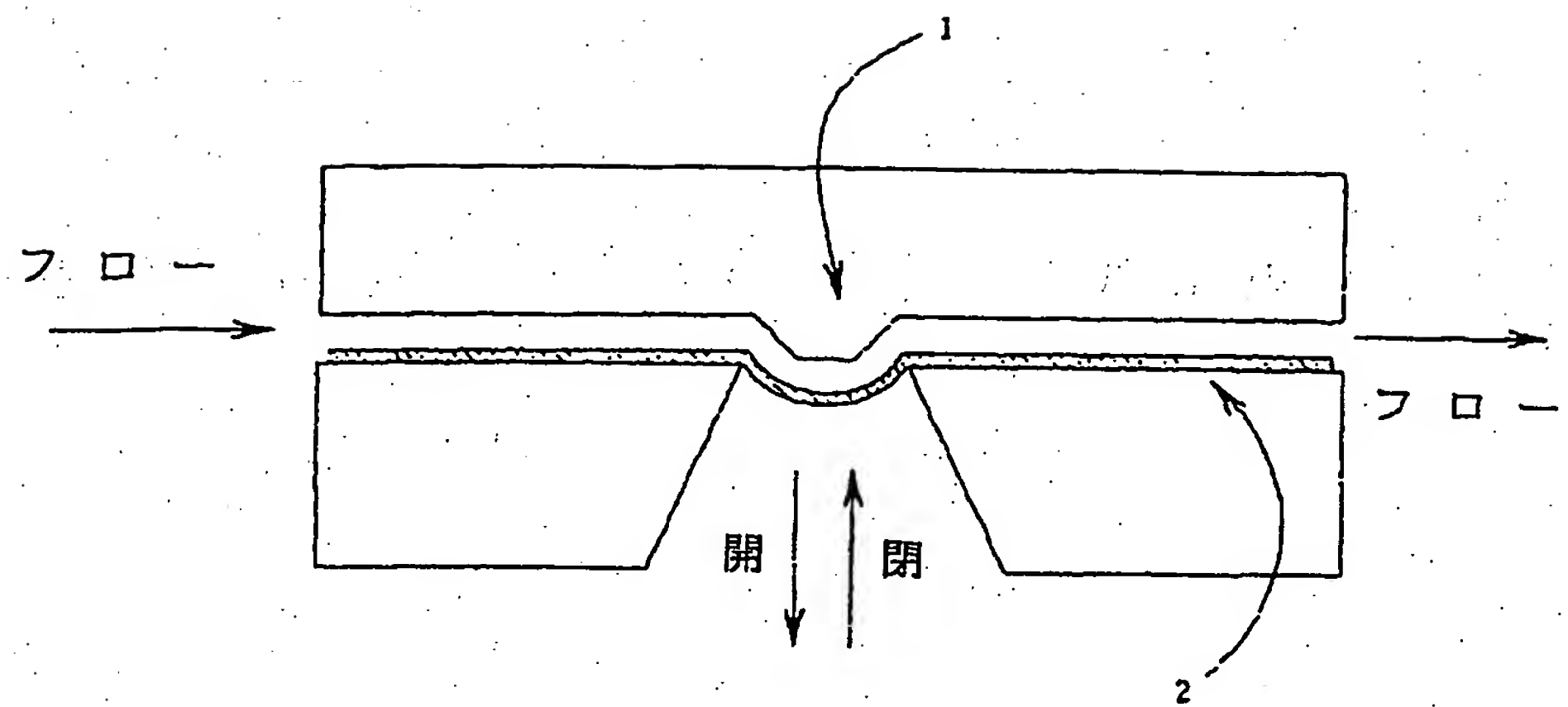
【図5】

FIG. 5D

【図6】

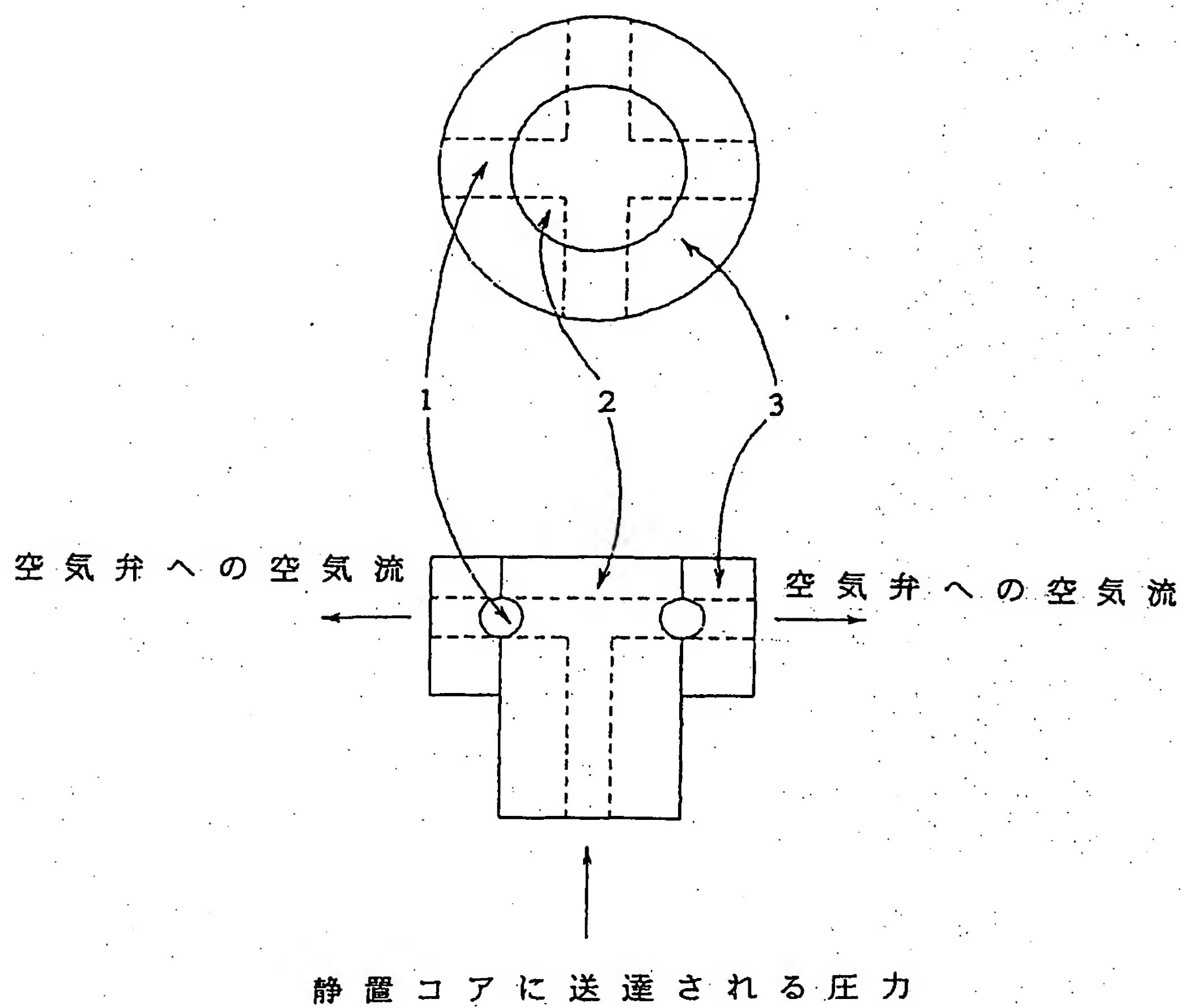
FIG. 6

【図7】

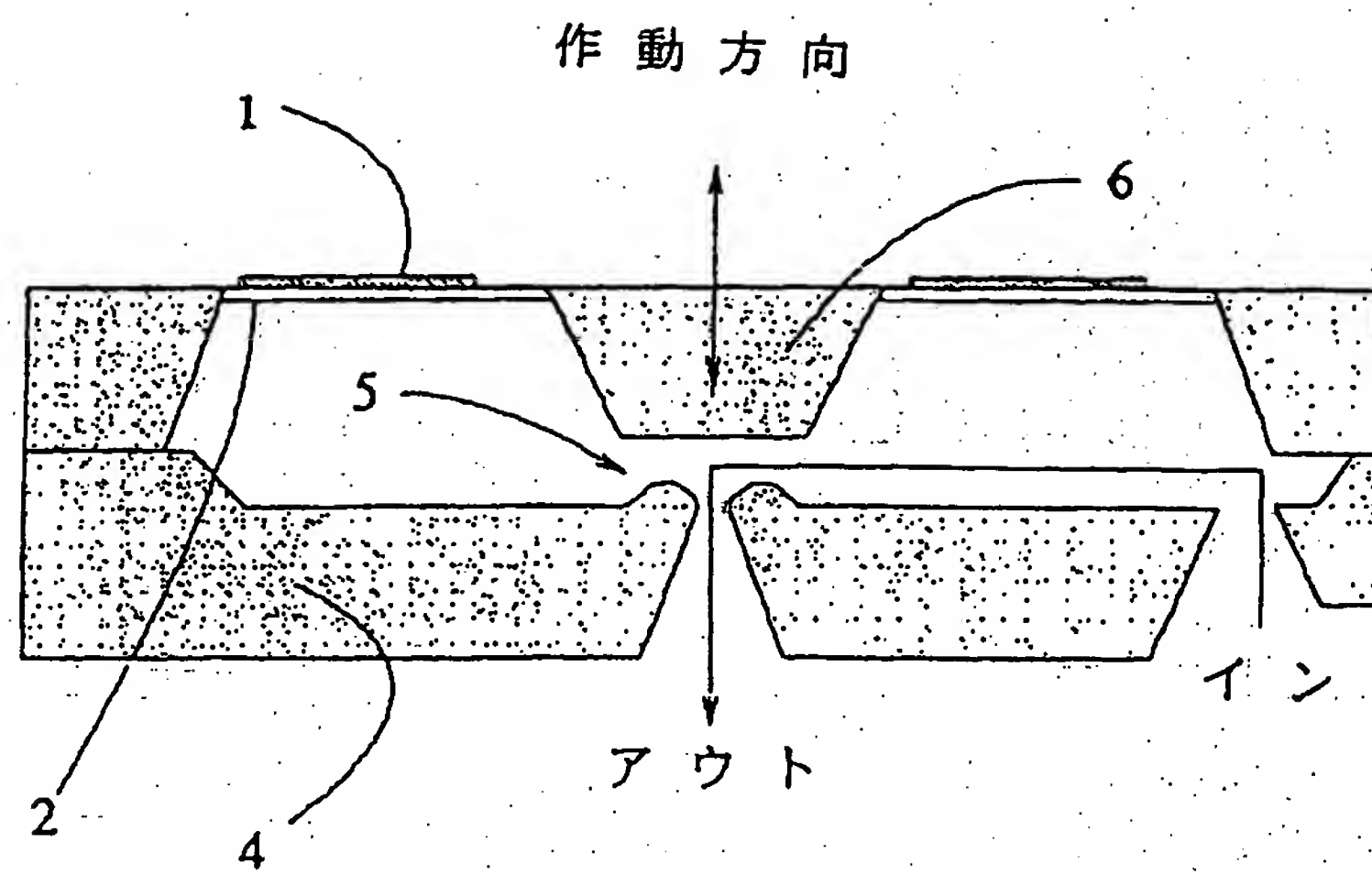
FIG. 7



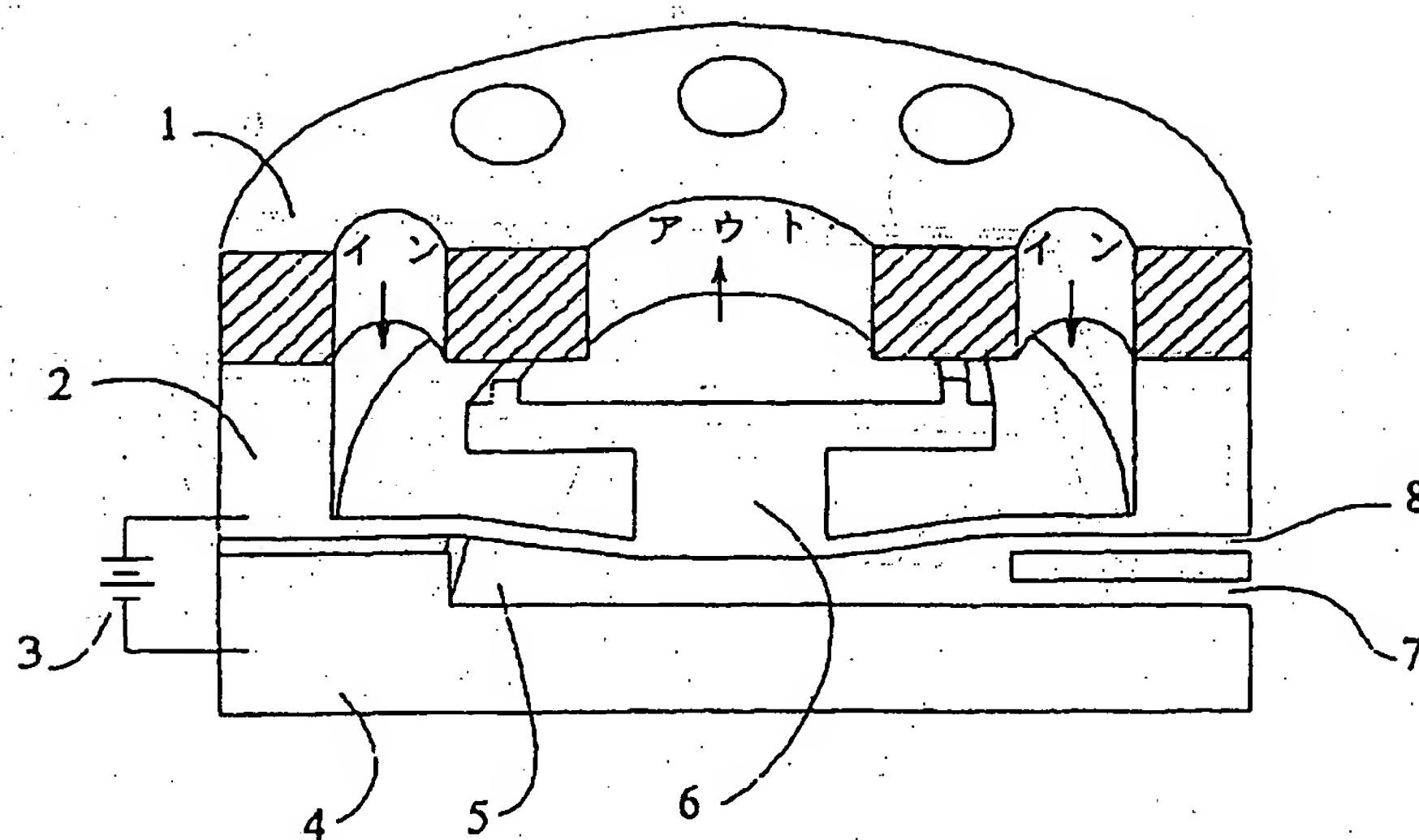
【図8】

FIG. 8

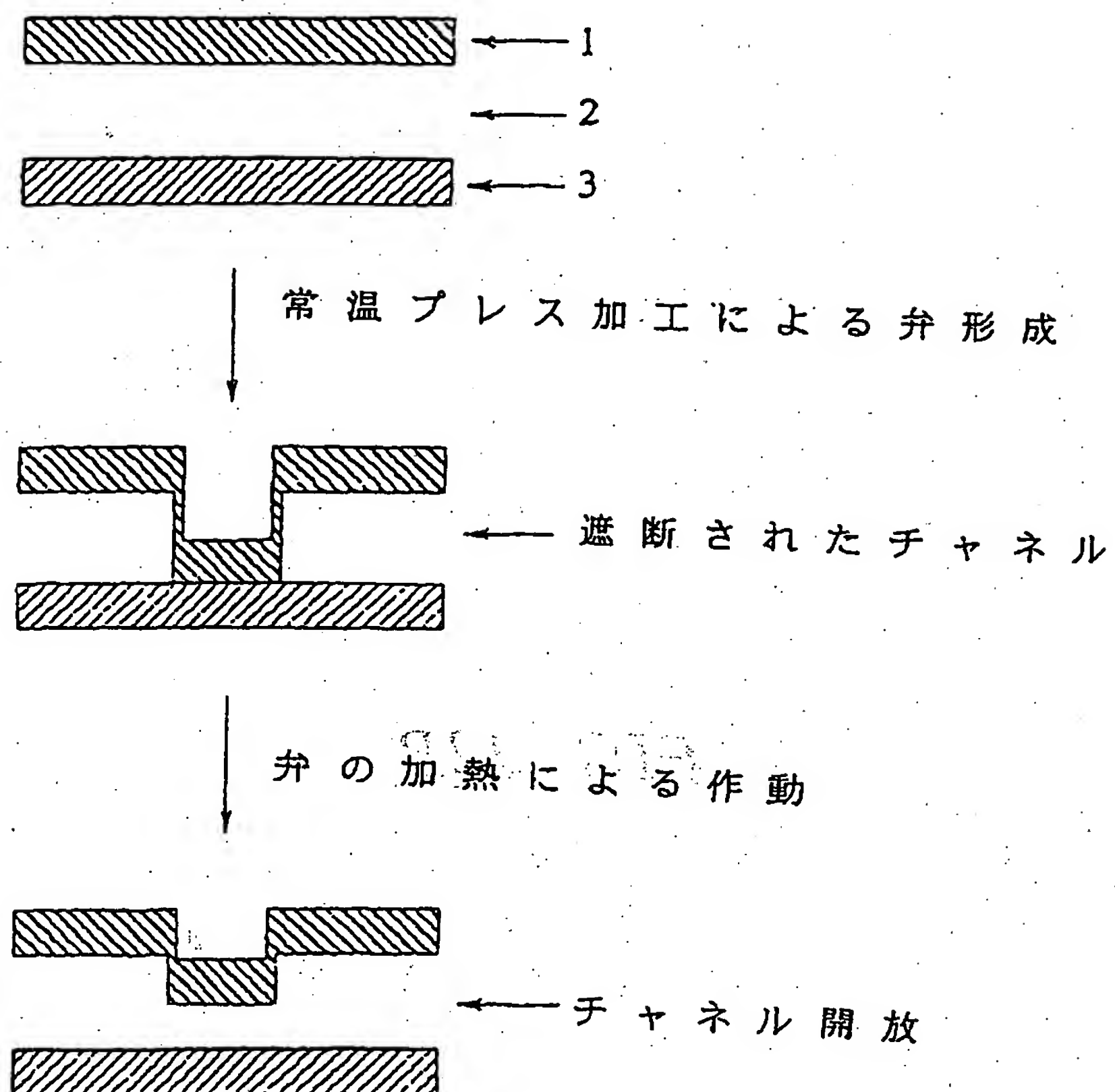
【図9】

FIG. 9

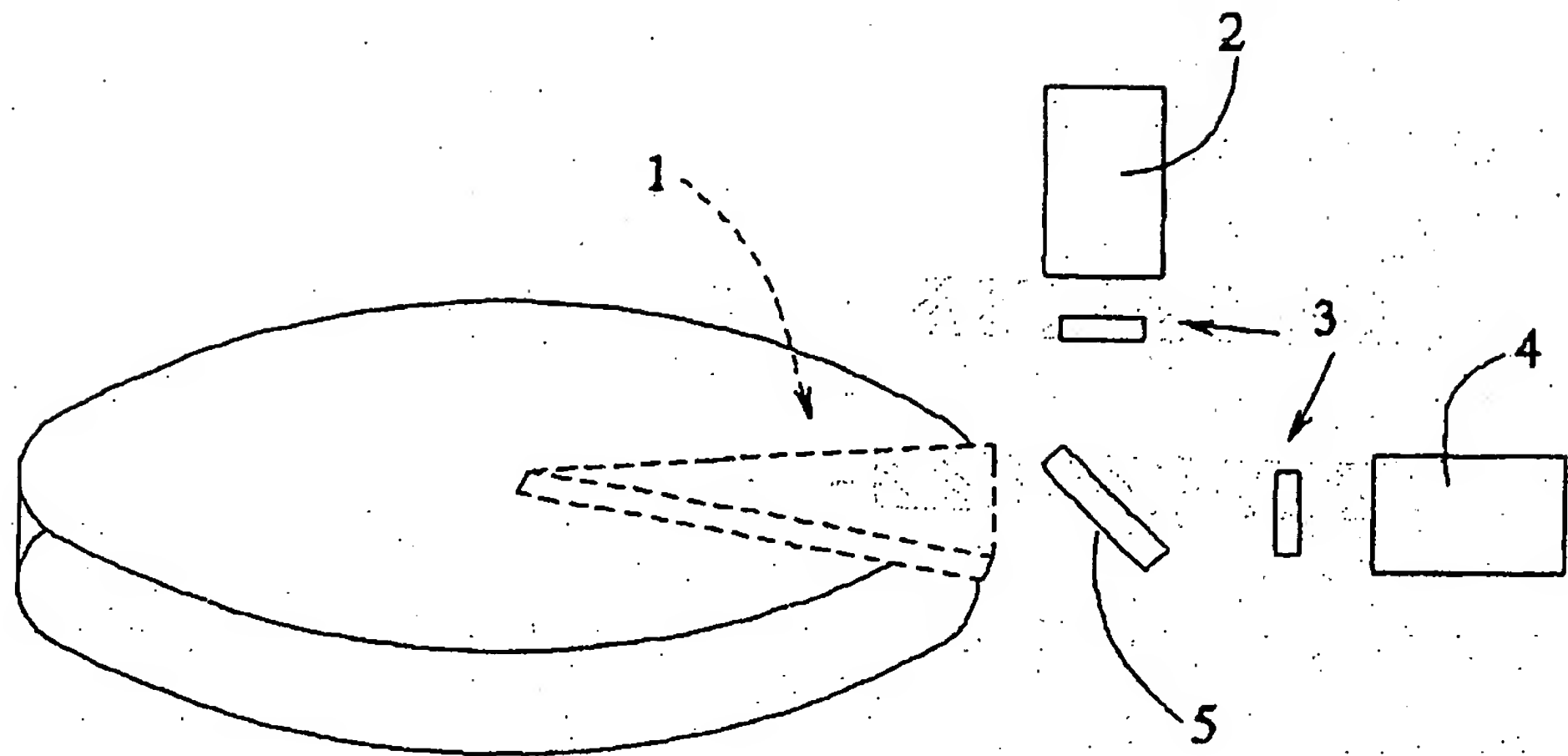
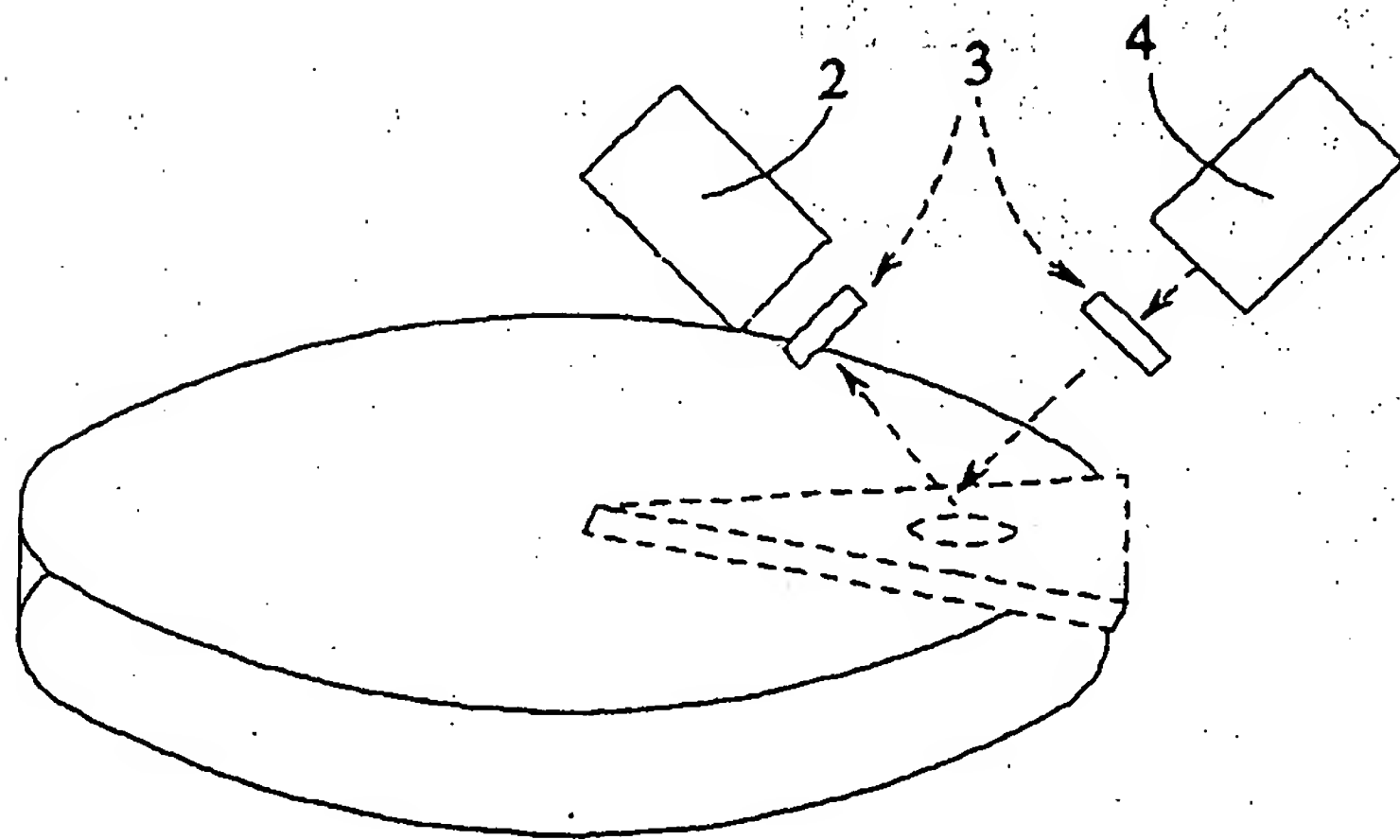
【図10】

FIG. 10

【図11】

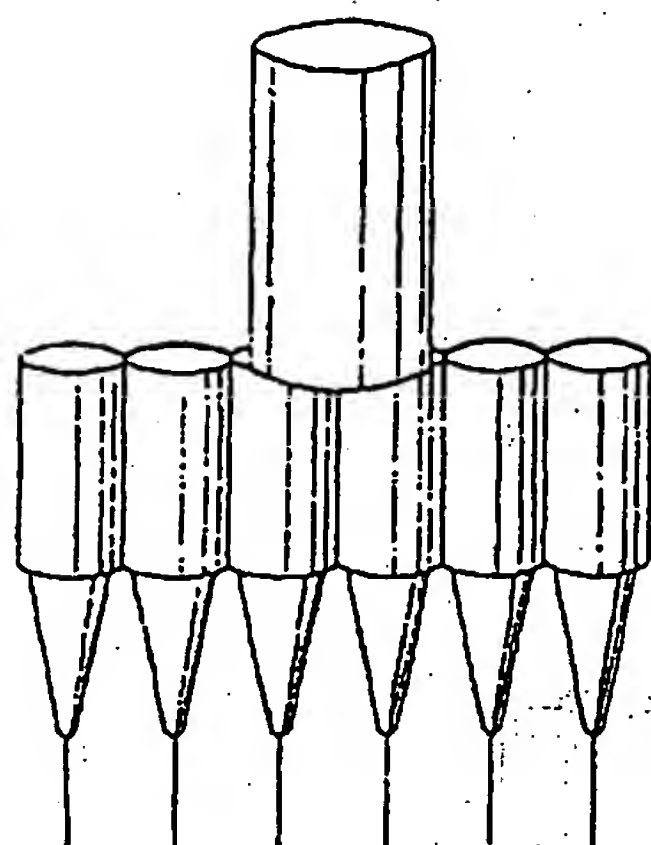
FIG. 11

【図12】

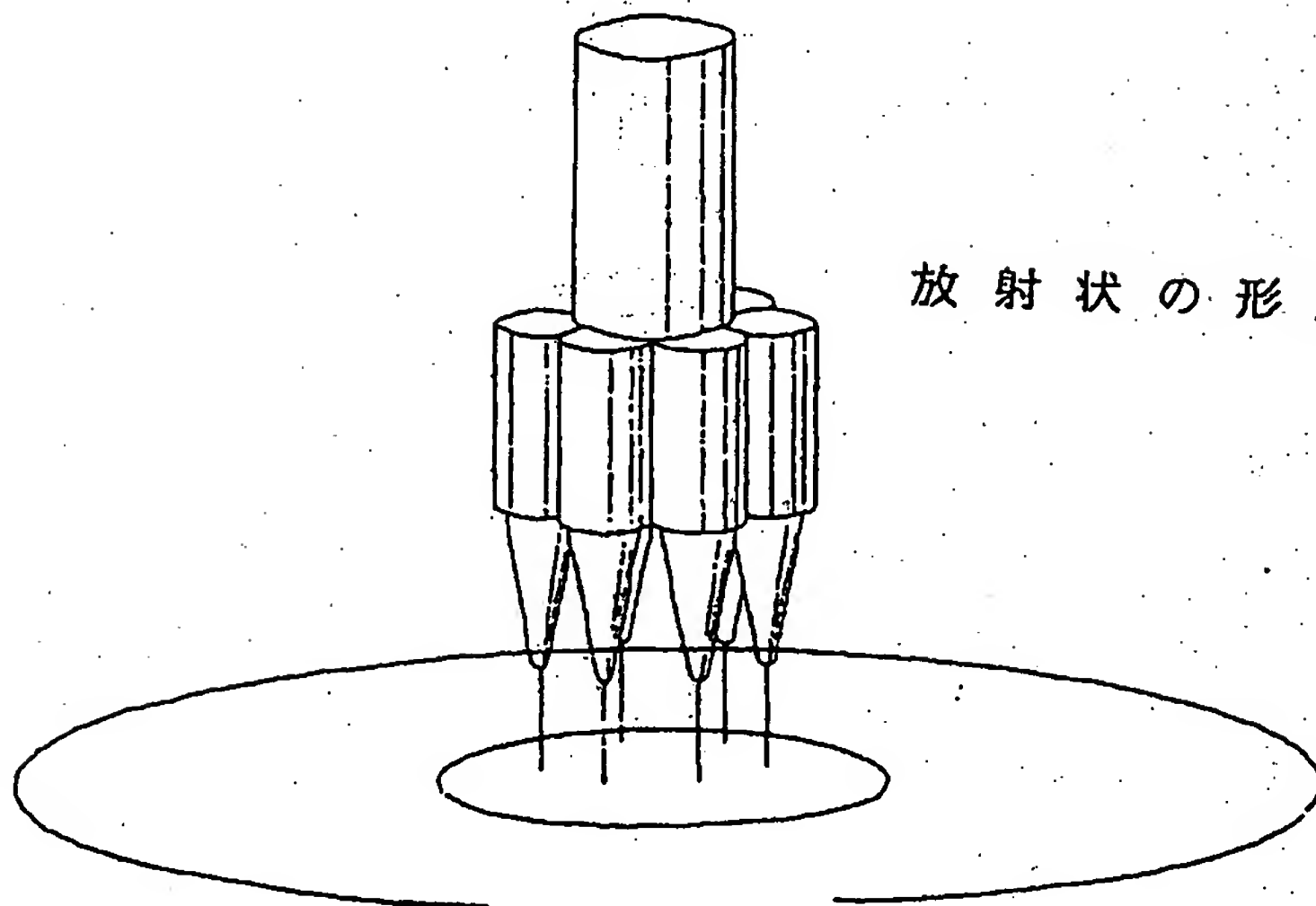
FIG. 12AFIG. 12B



【図13】

FIG. 13A

線状の構成

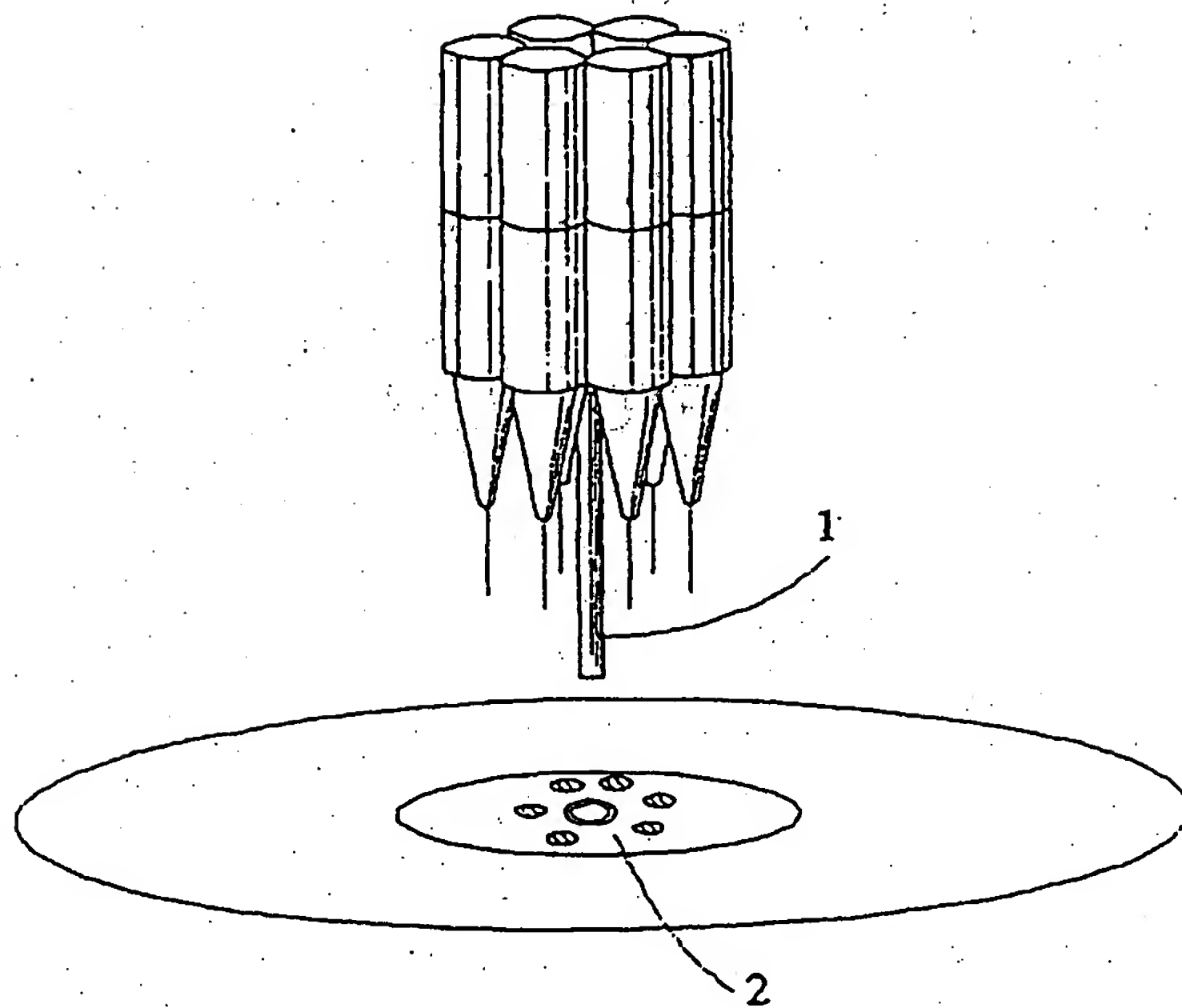
FIG. 13B

放射状の形成

【図13】

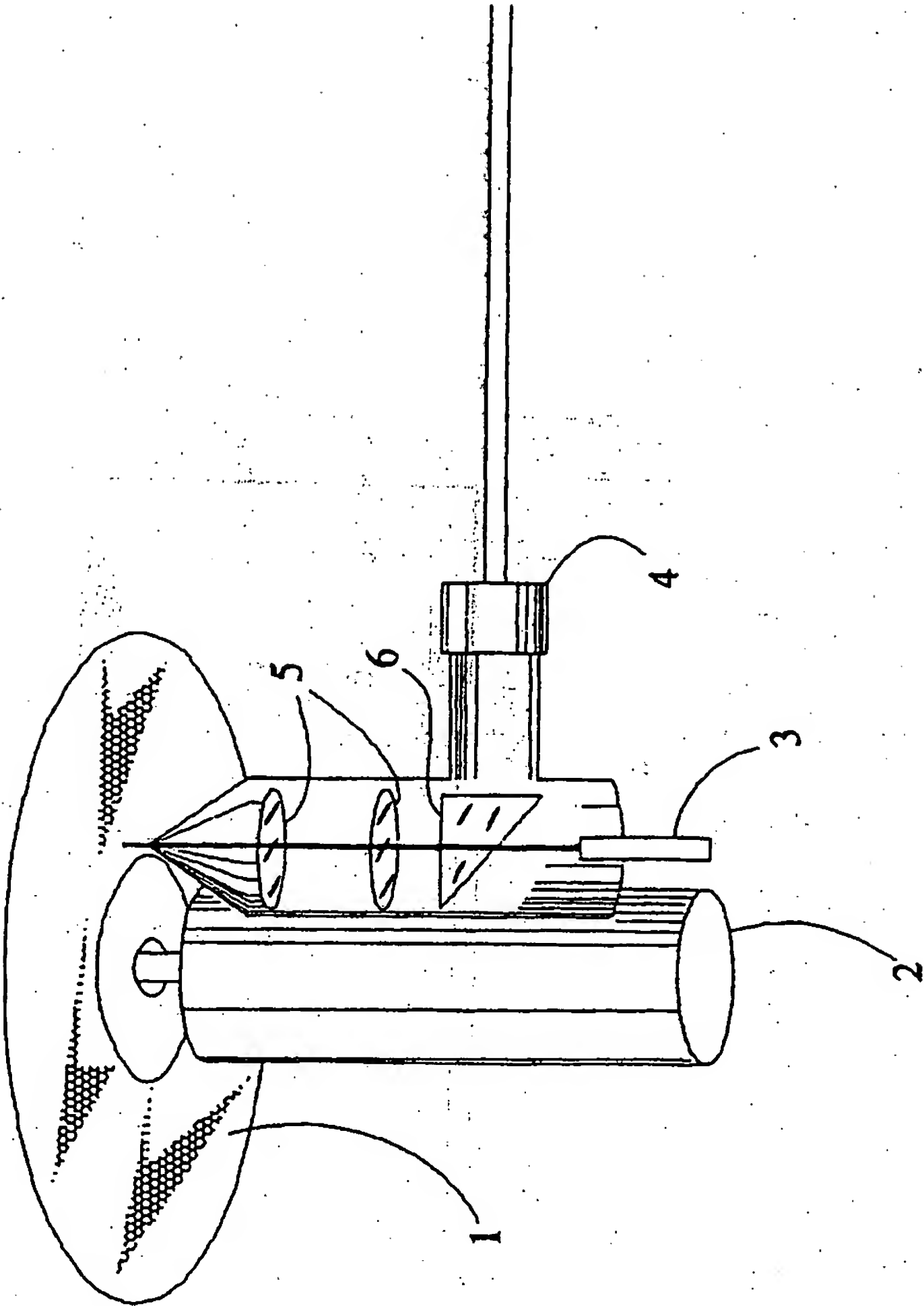
FIG. 13C

放射状の構成



【図14】

FIG. 14A



【図14】

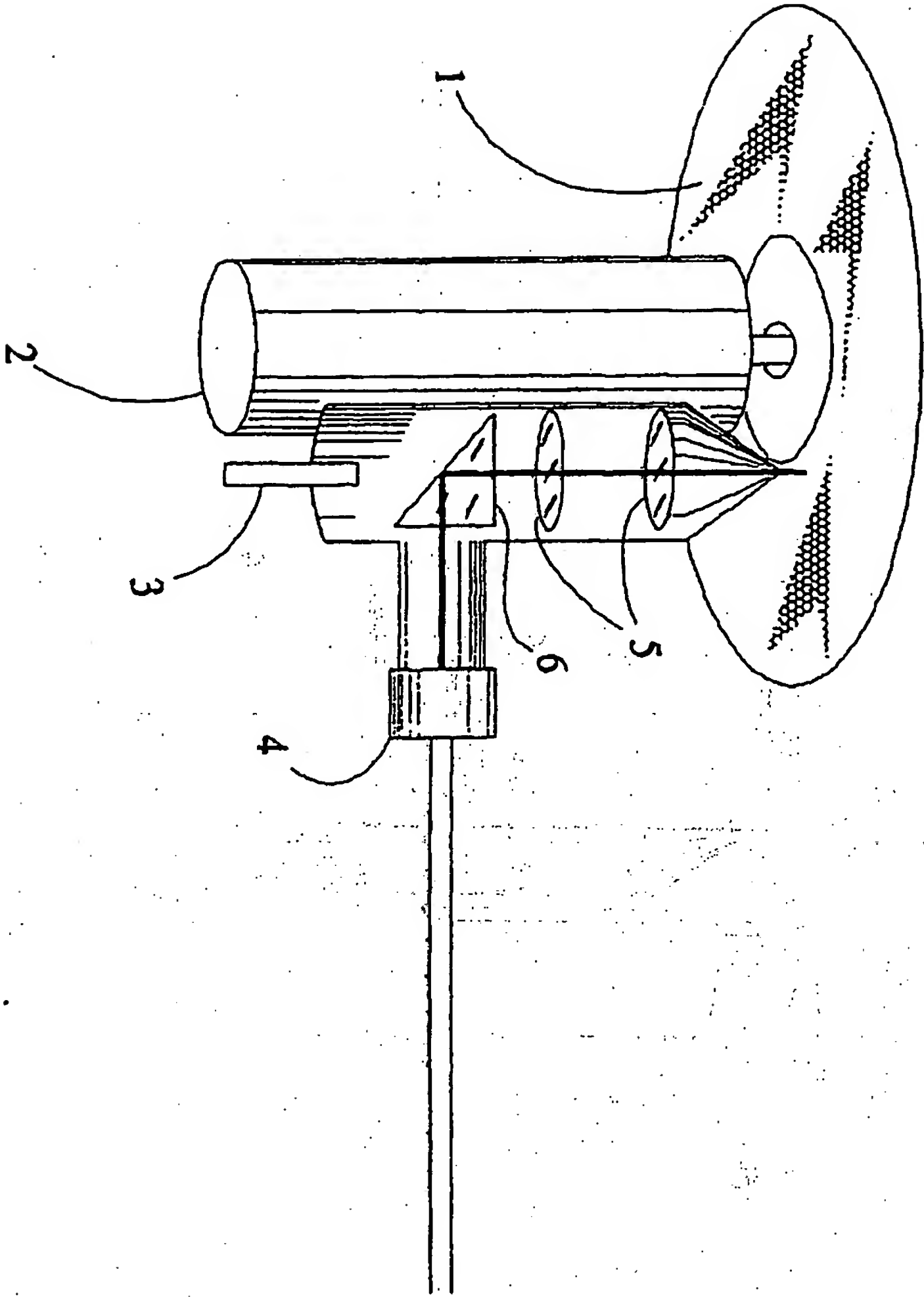
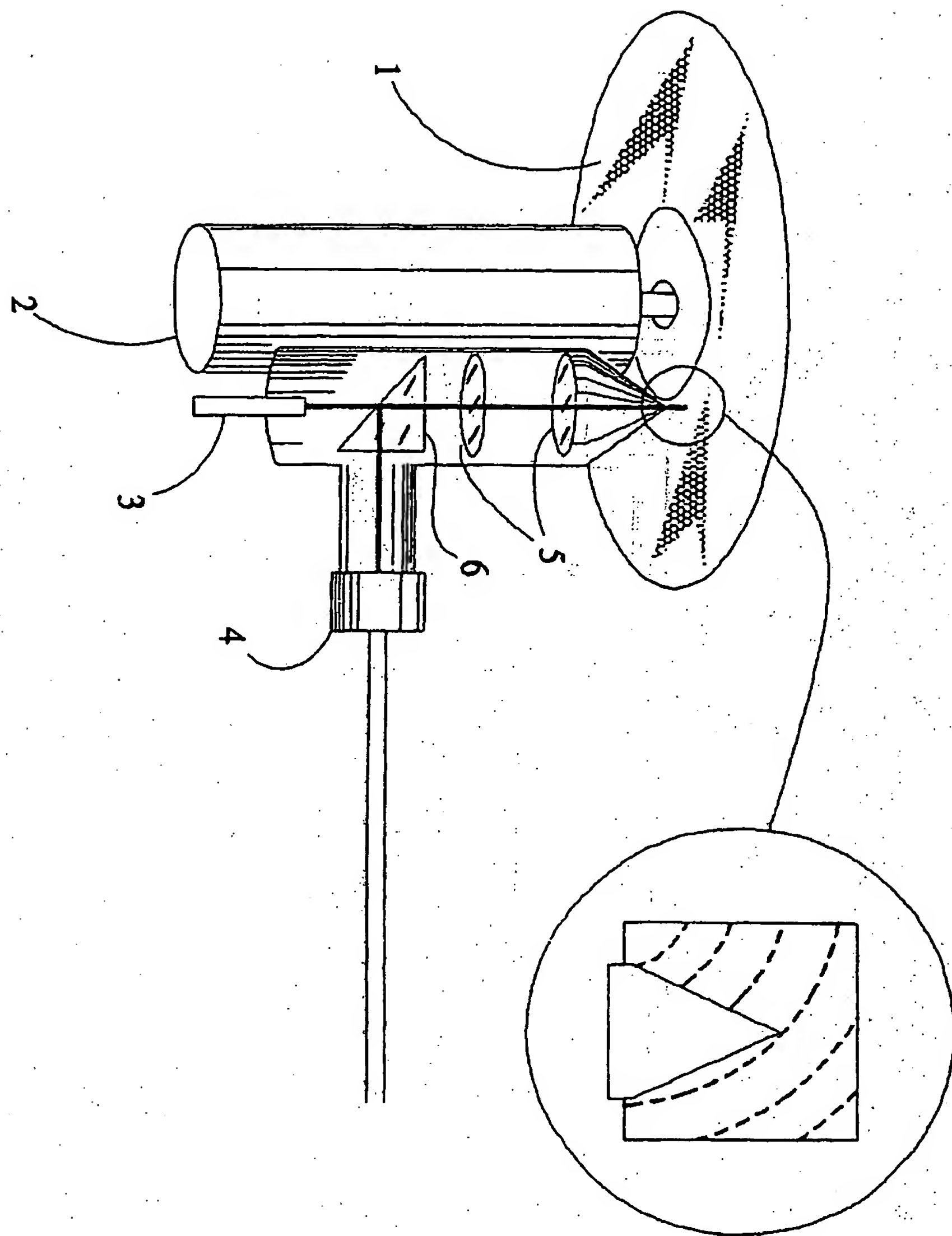


FIG. 14B

【図14】

FIG. 14C





【図14】

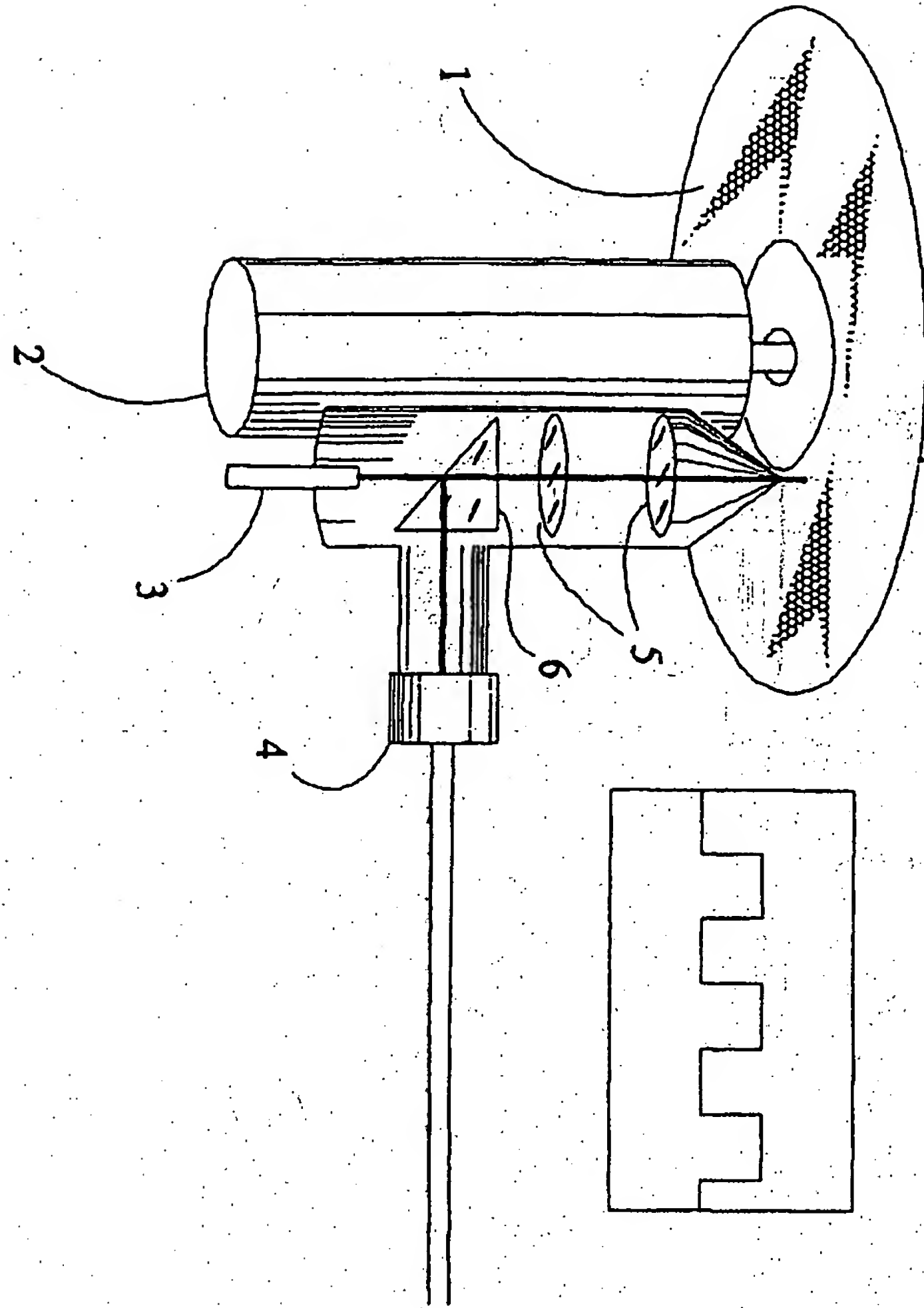


FIG. 14D

【図14】

レーザービームは、ディスクのピットとランド上に焦点を当て、フォトダイオード上に反射される。

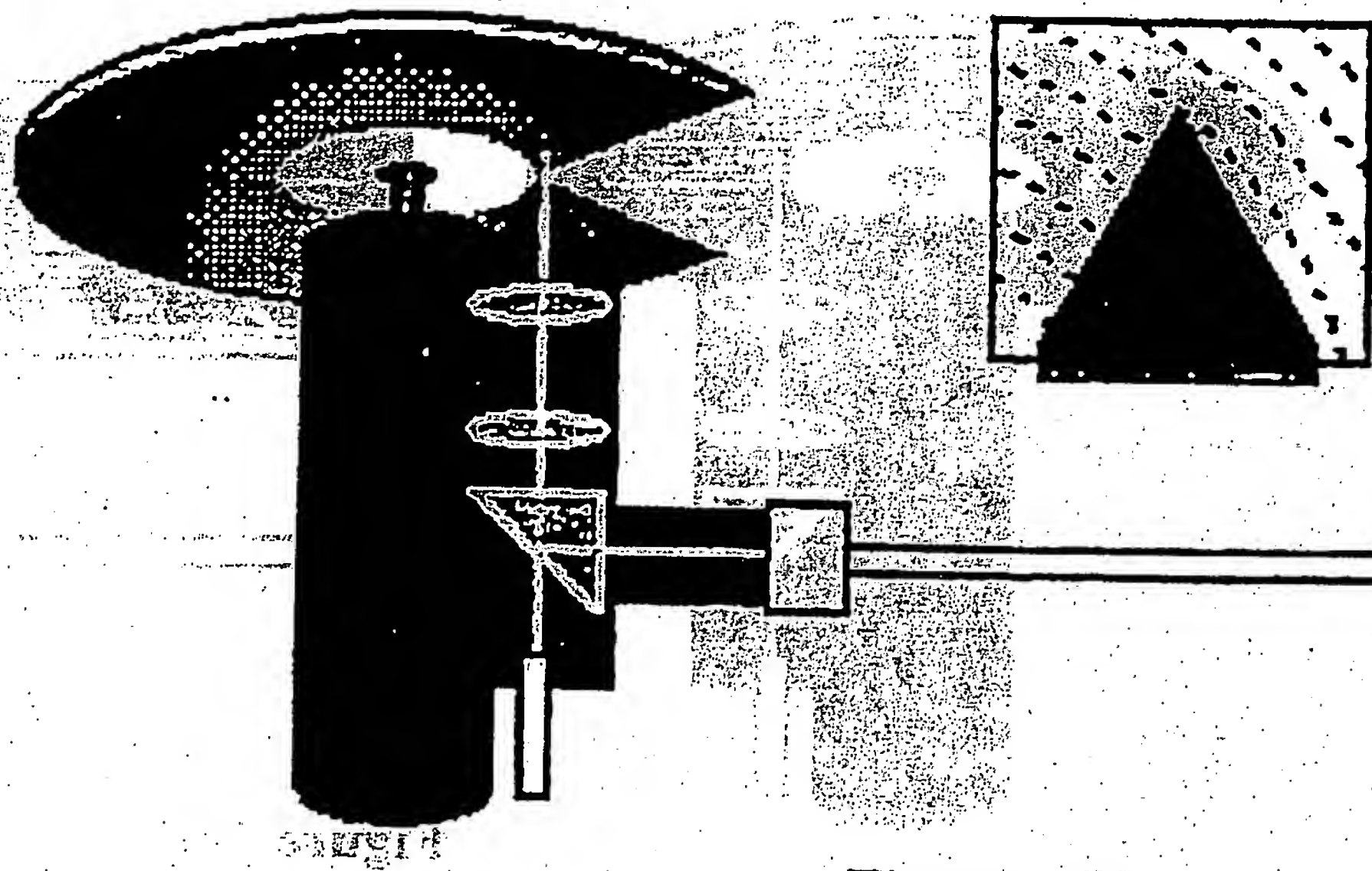


Figure 14E

【図14】

フォトダイオードは、パルスを電気信号に変換する。

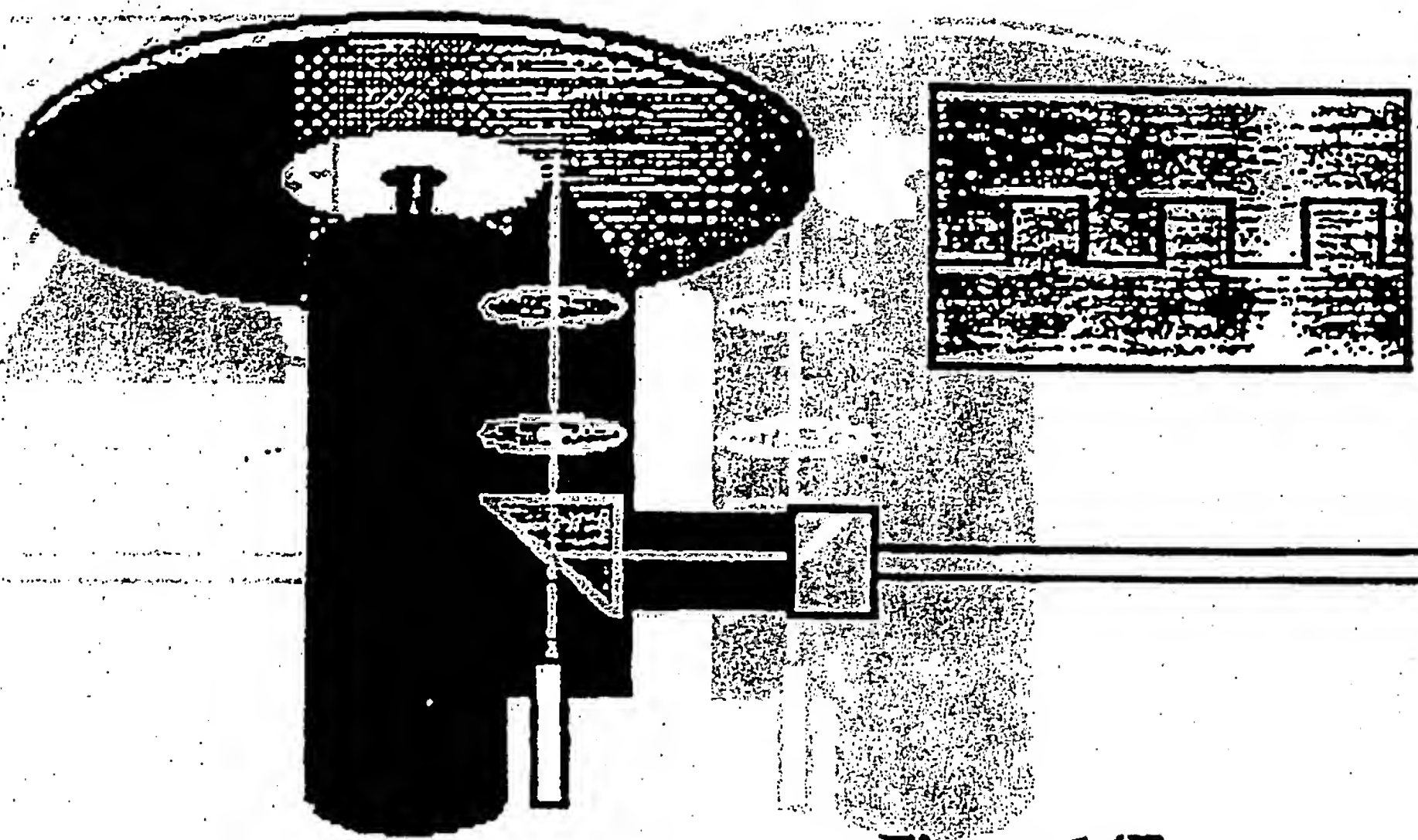
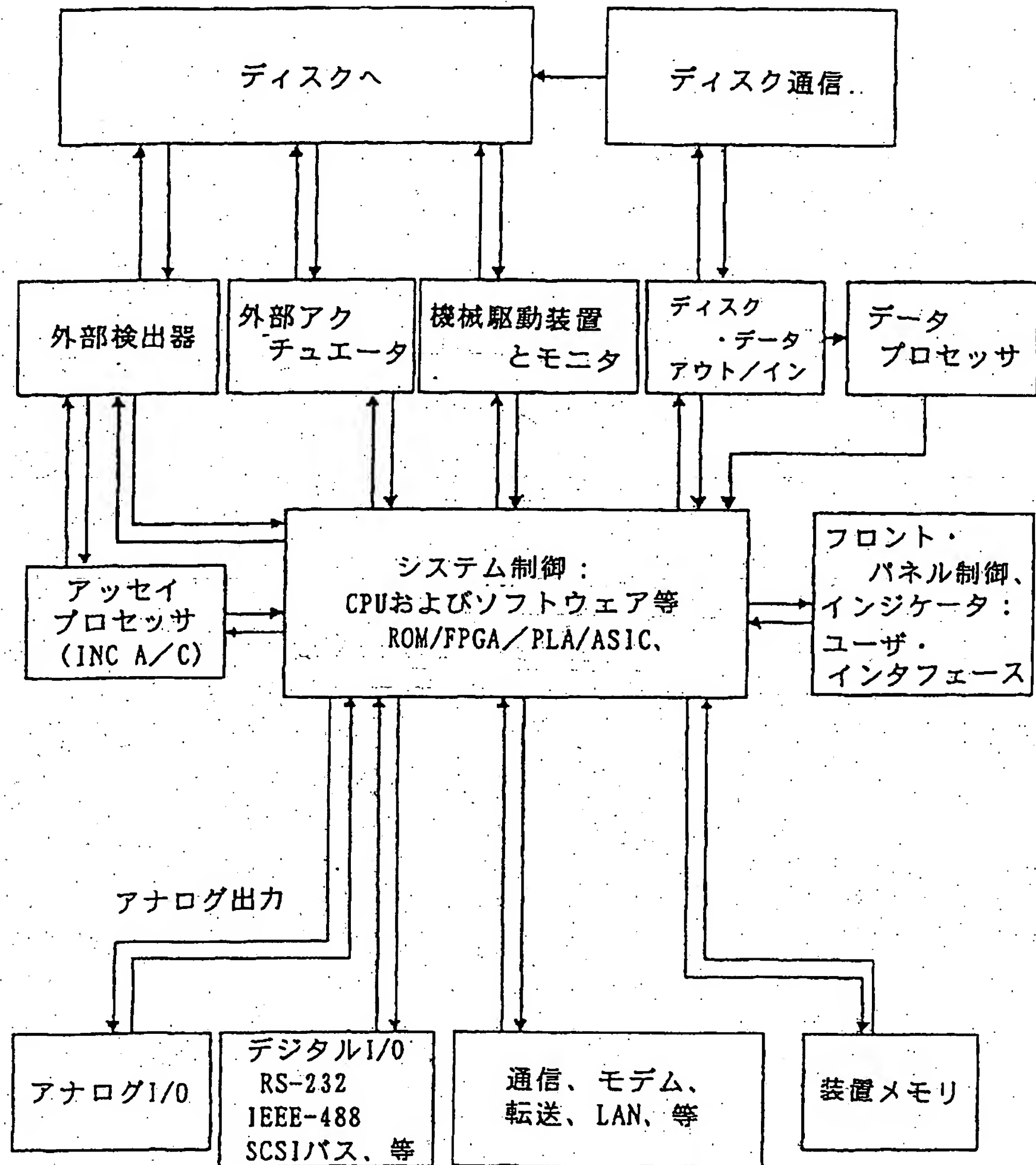


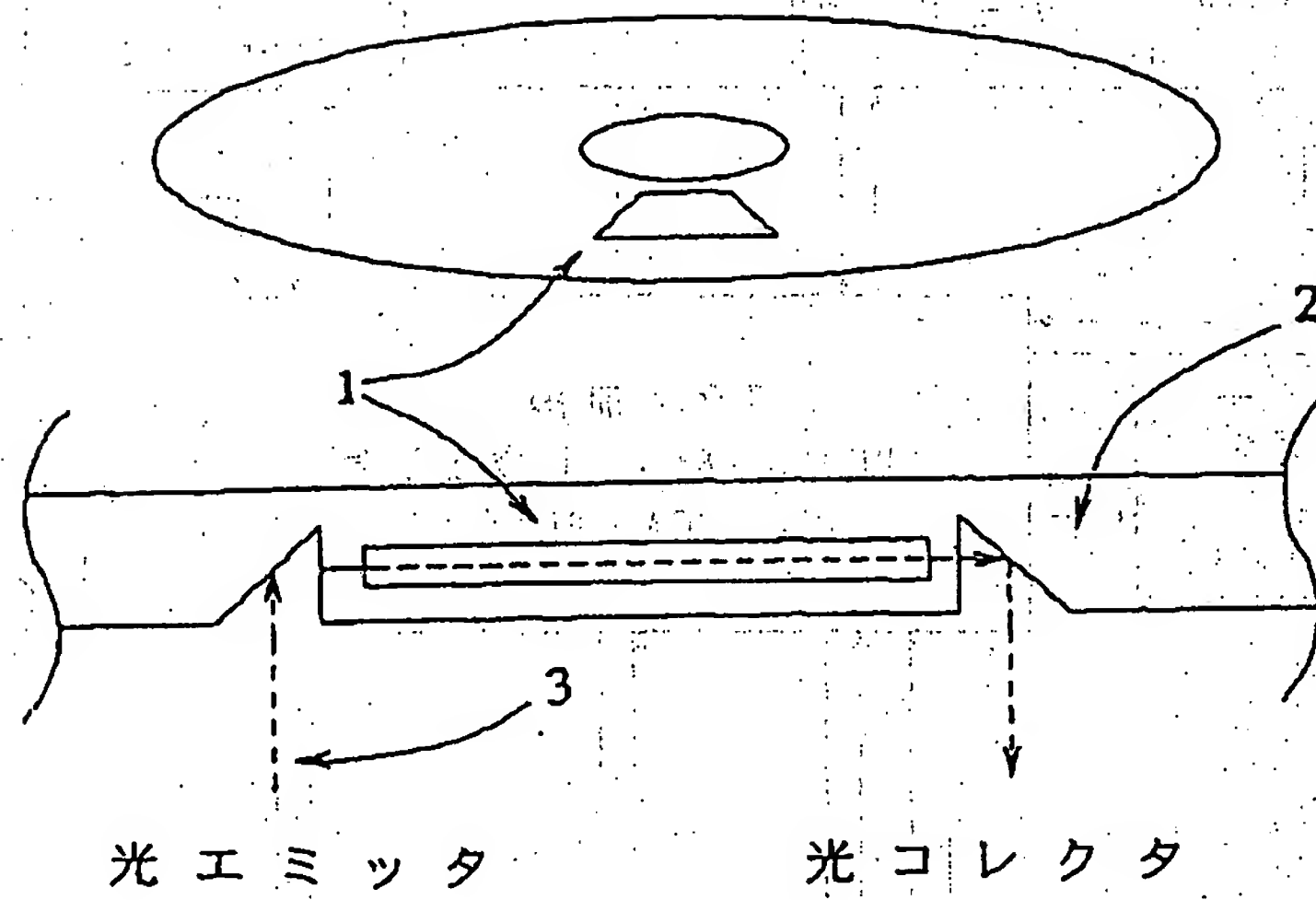
Figure 14F

【図15】

FIG. 15



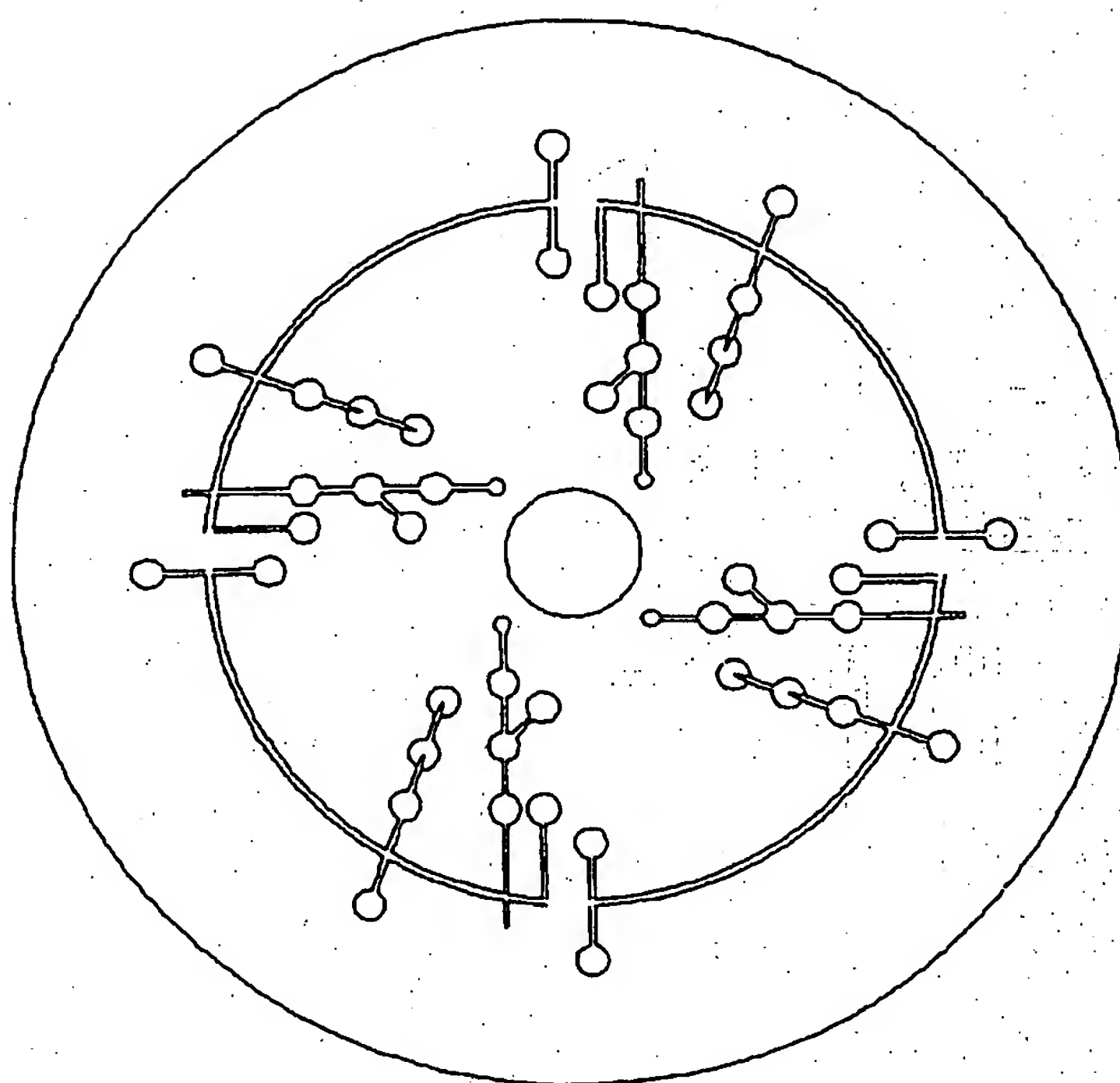
【図16】

FIG. 16



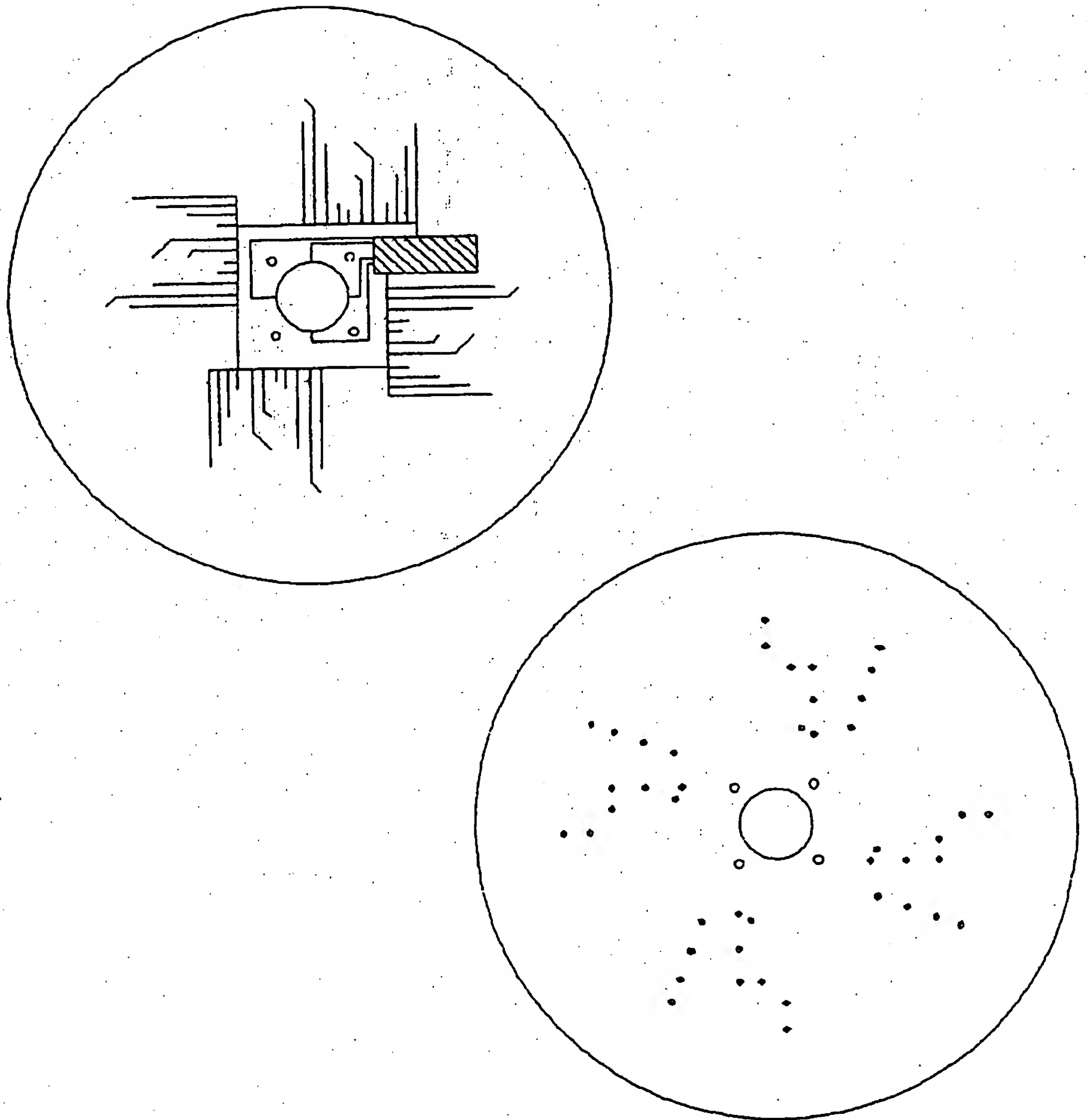
【図17】

FIG. 17A



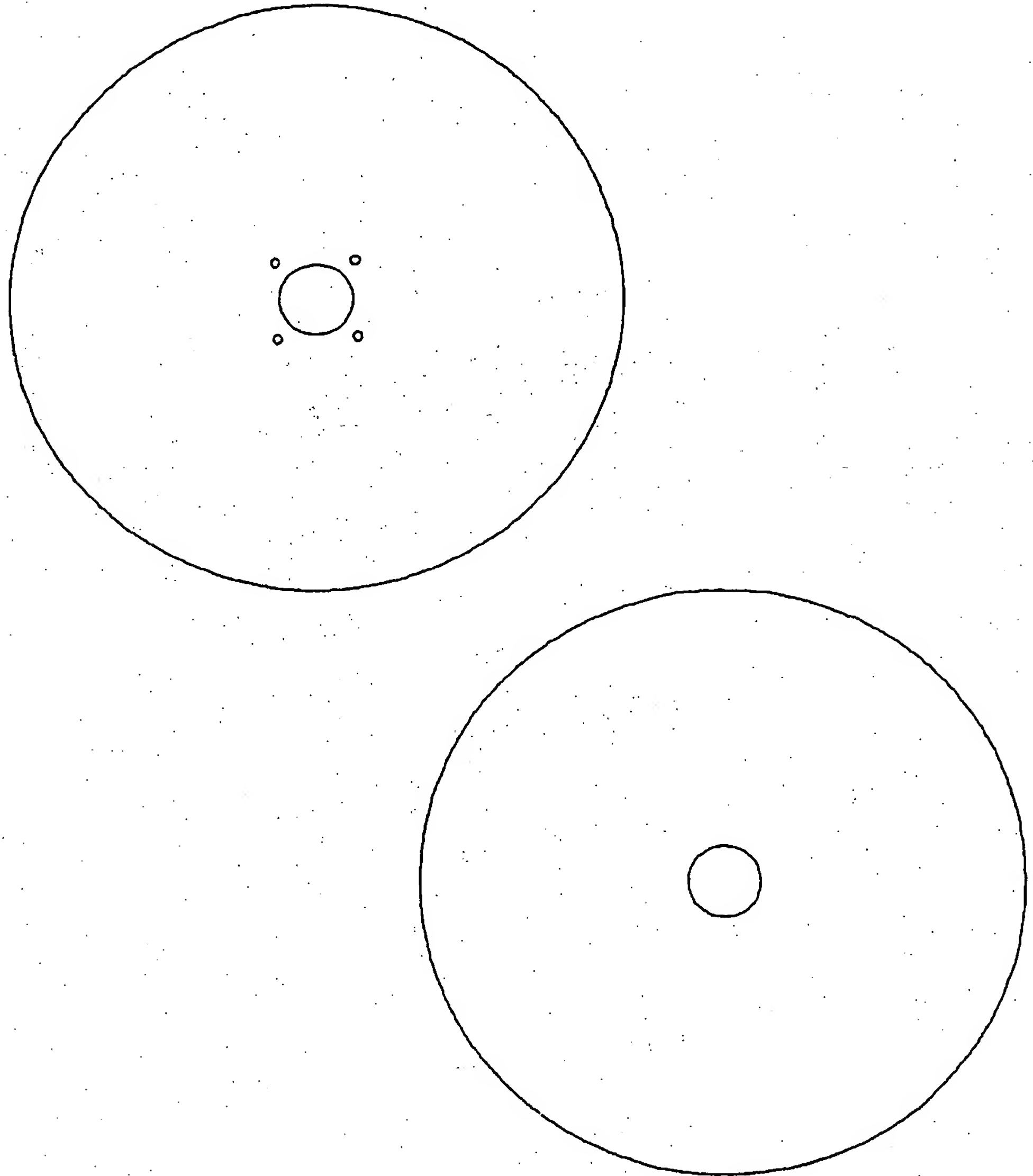
【図17】

FIG. 17B

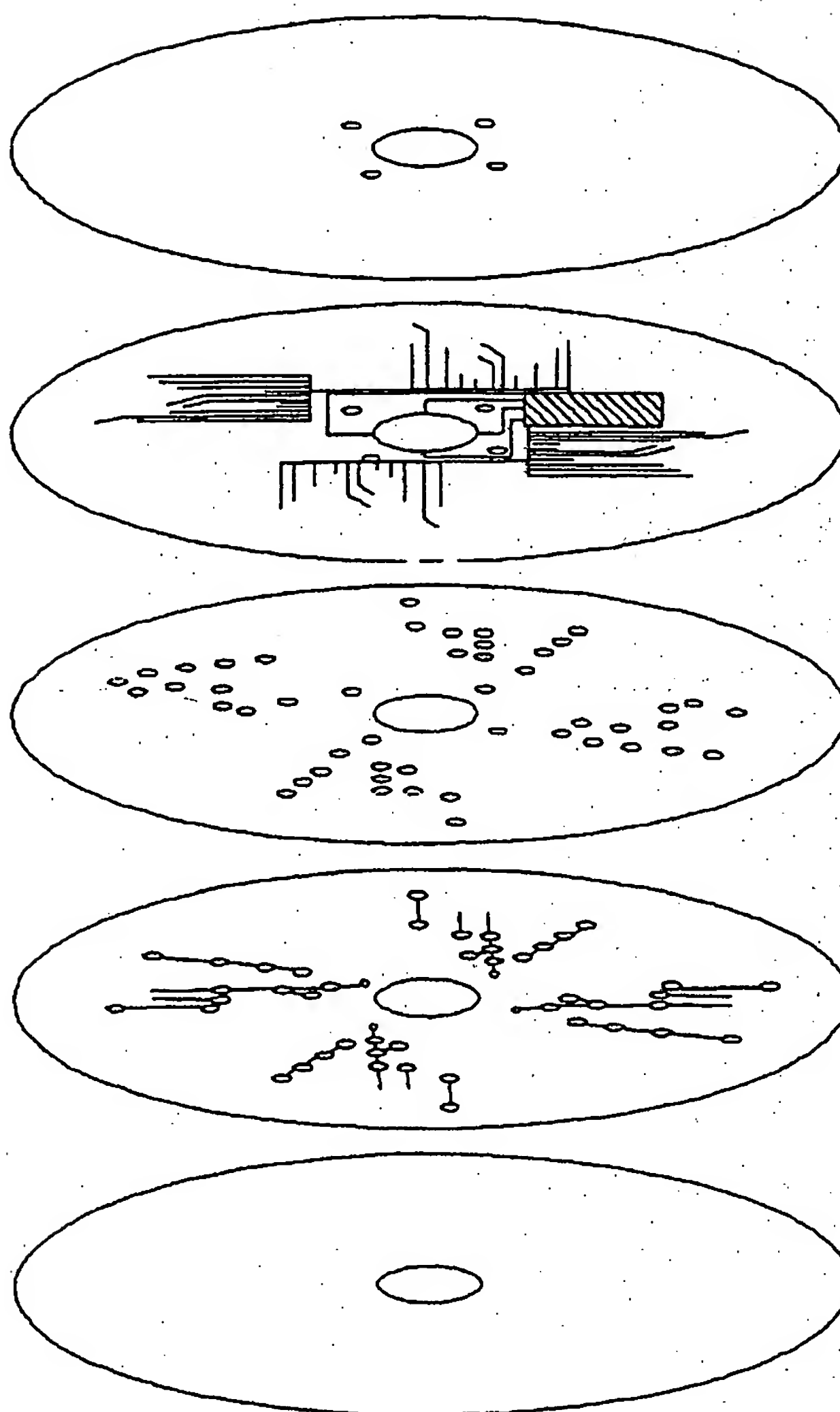


【図17】

FIG. 17C

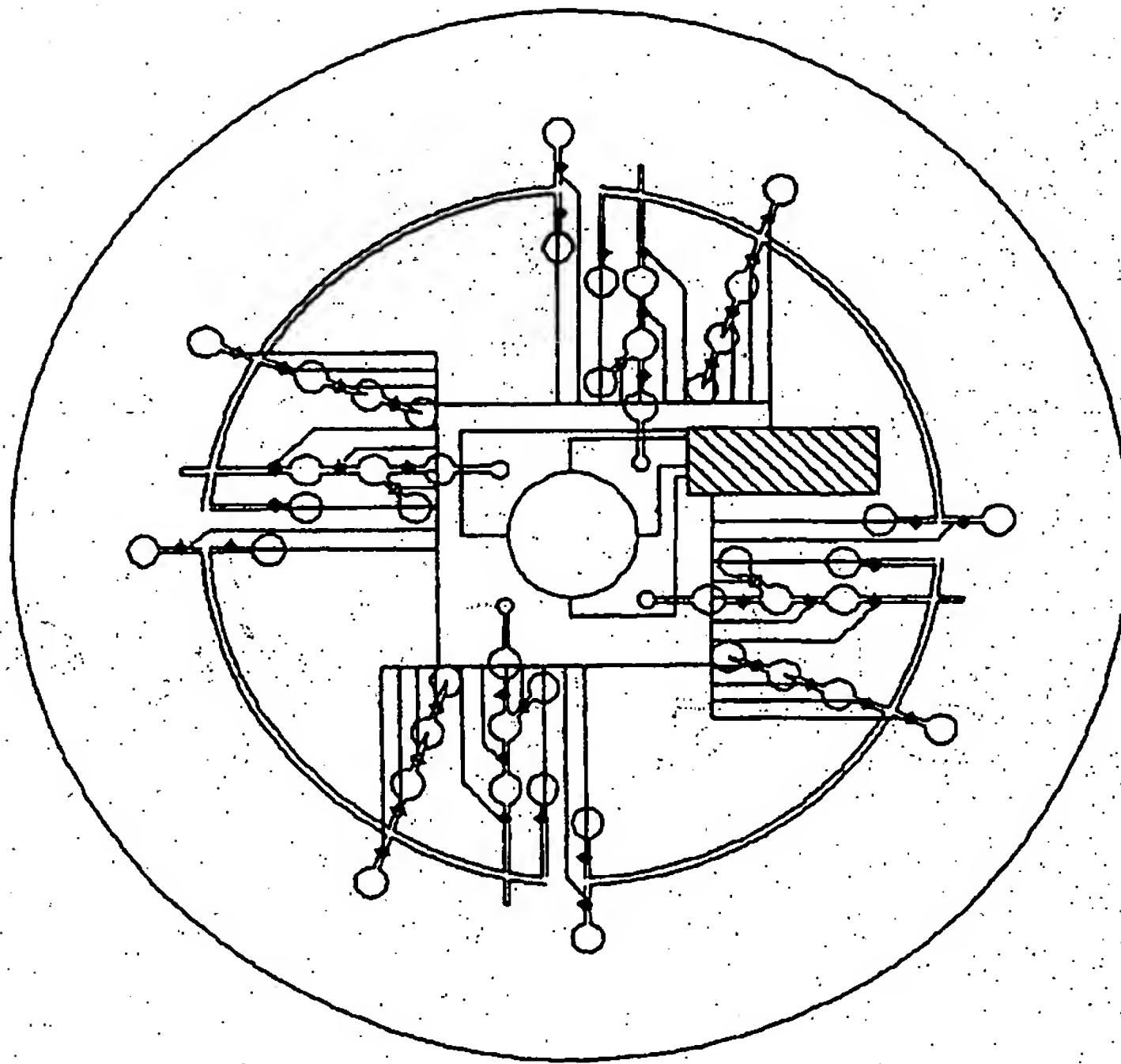


【図17】

FIG. 17D

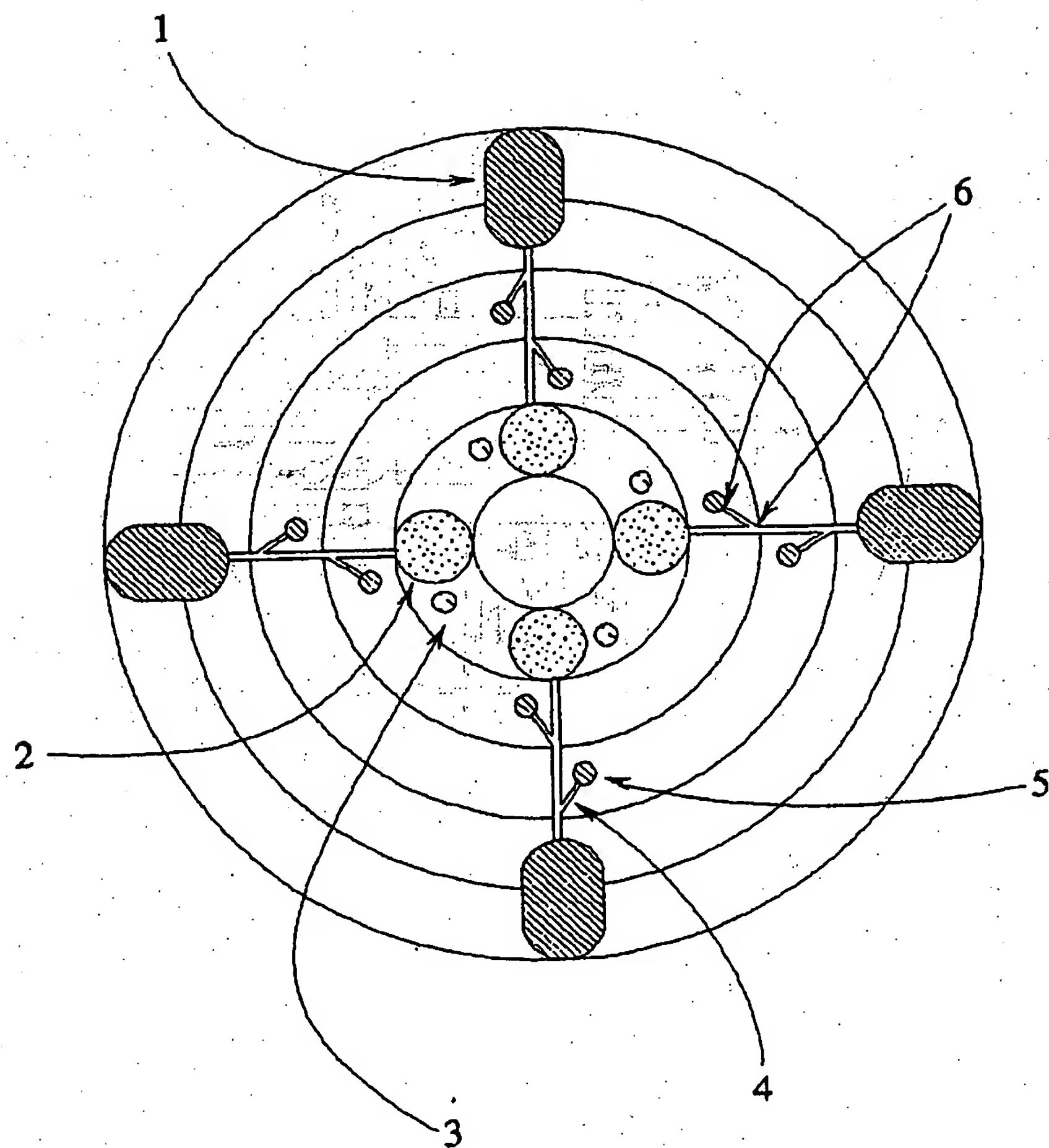
【図17】

FIG. 17E

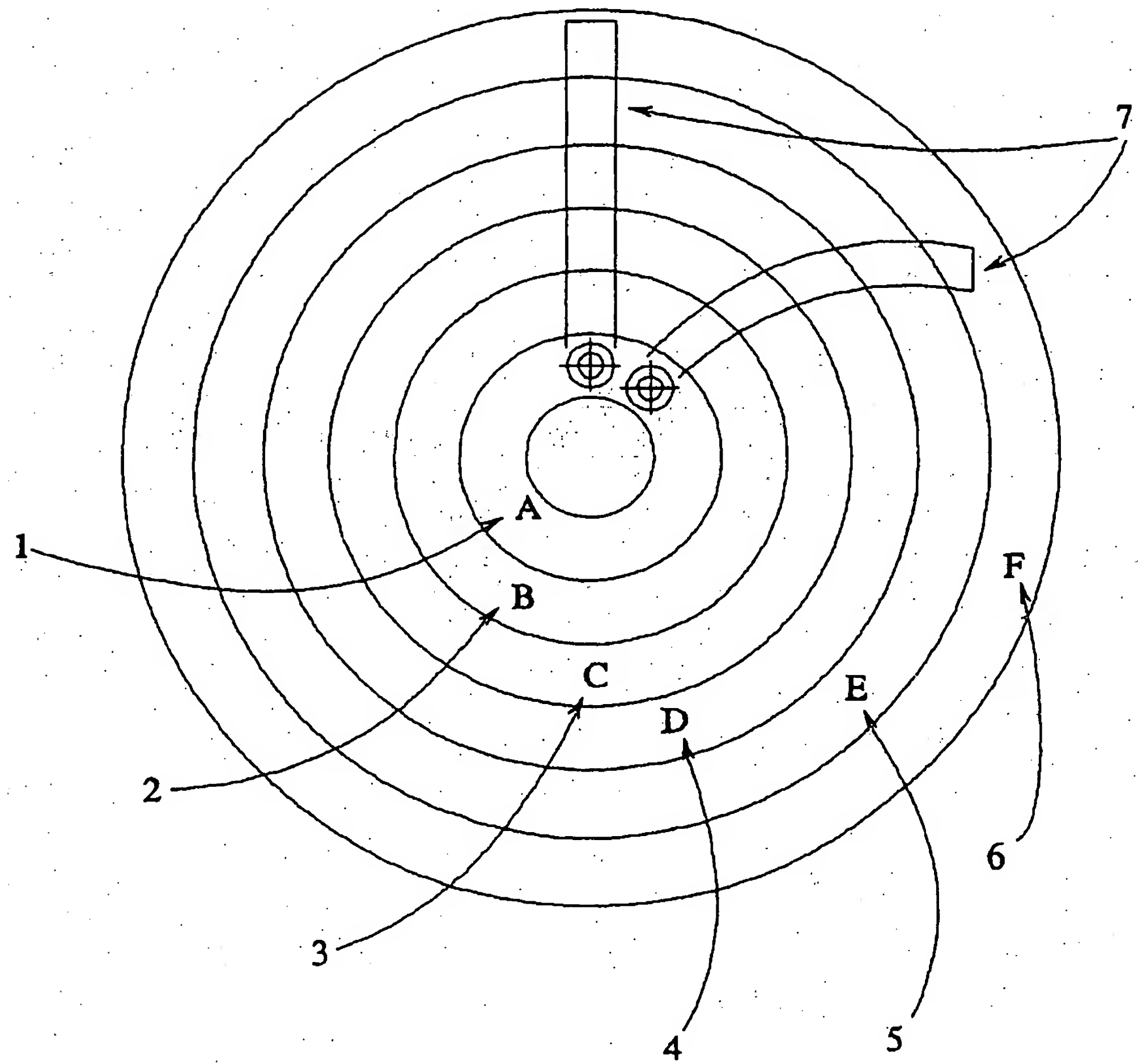




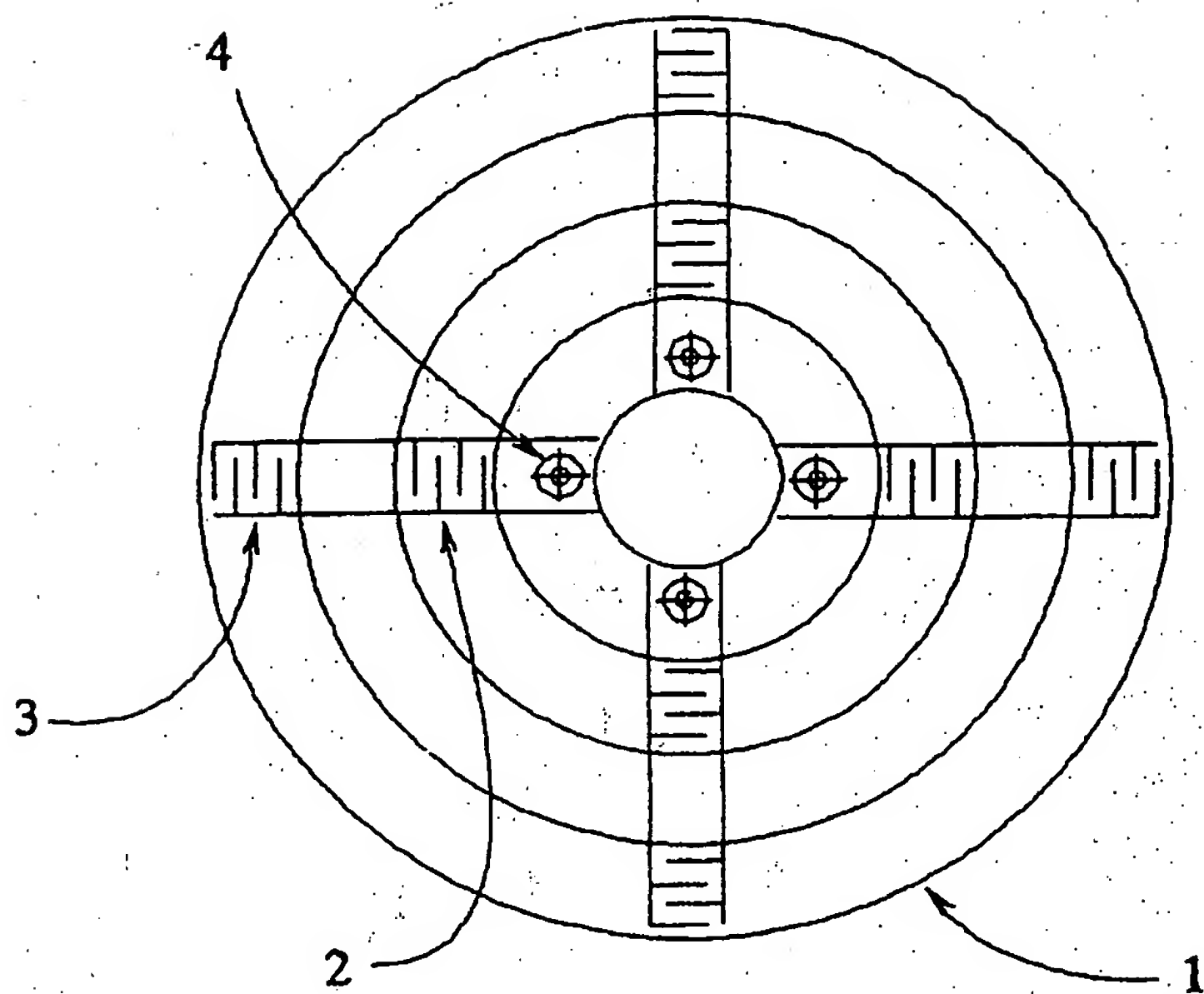
【図17】

FIG. 17F

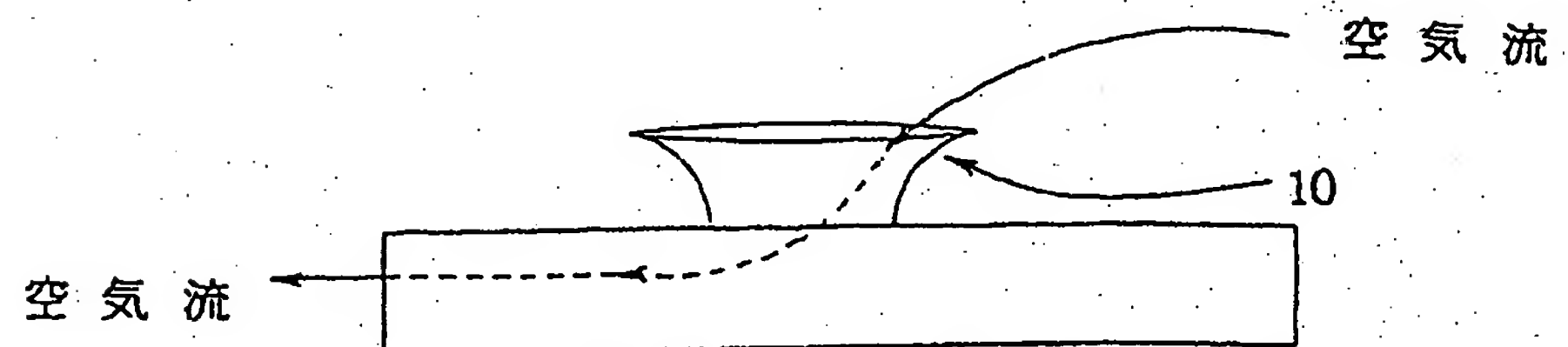
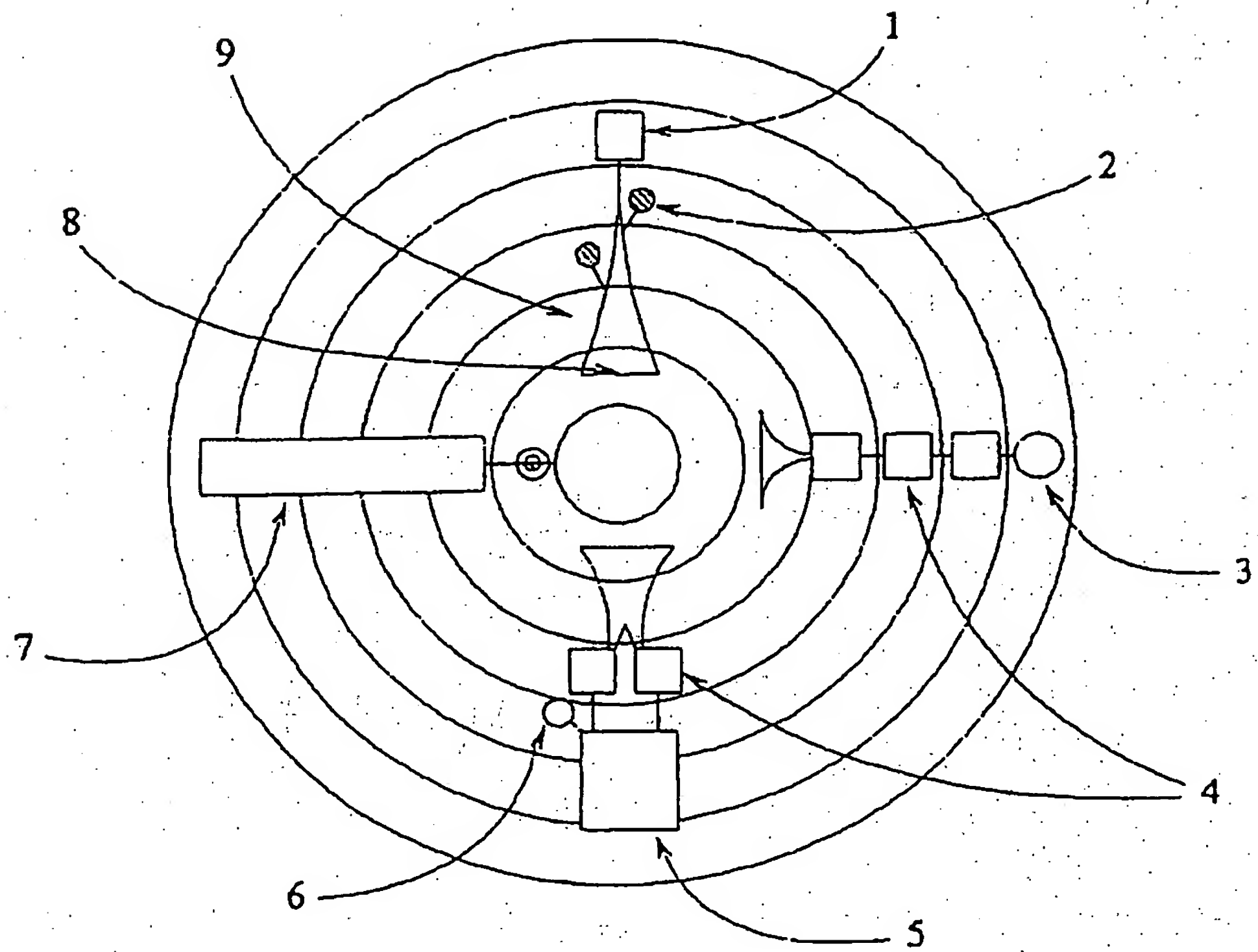
【図17】

FIG. 17G

【図17】

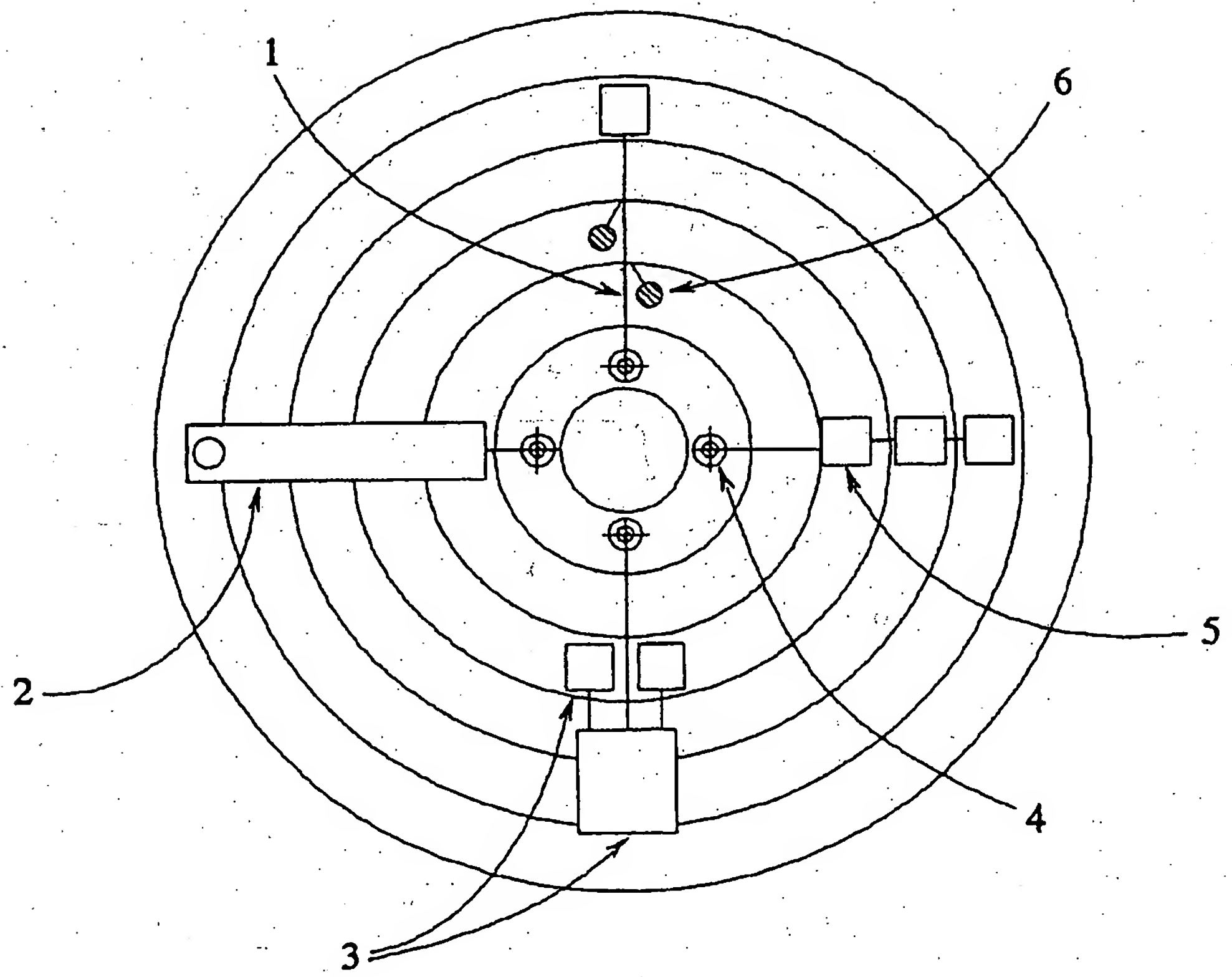
FIG. 17H

【図17】

FIG. 17I

【図17】

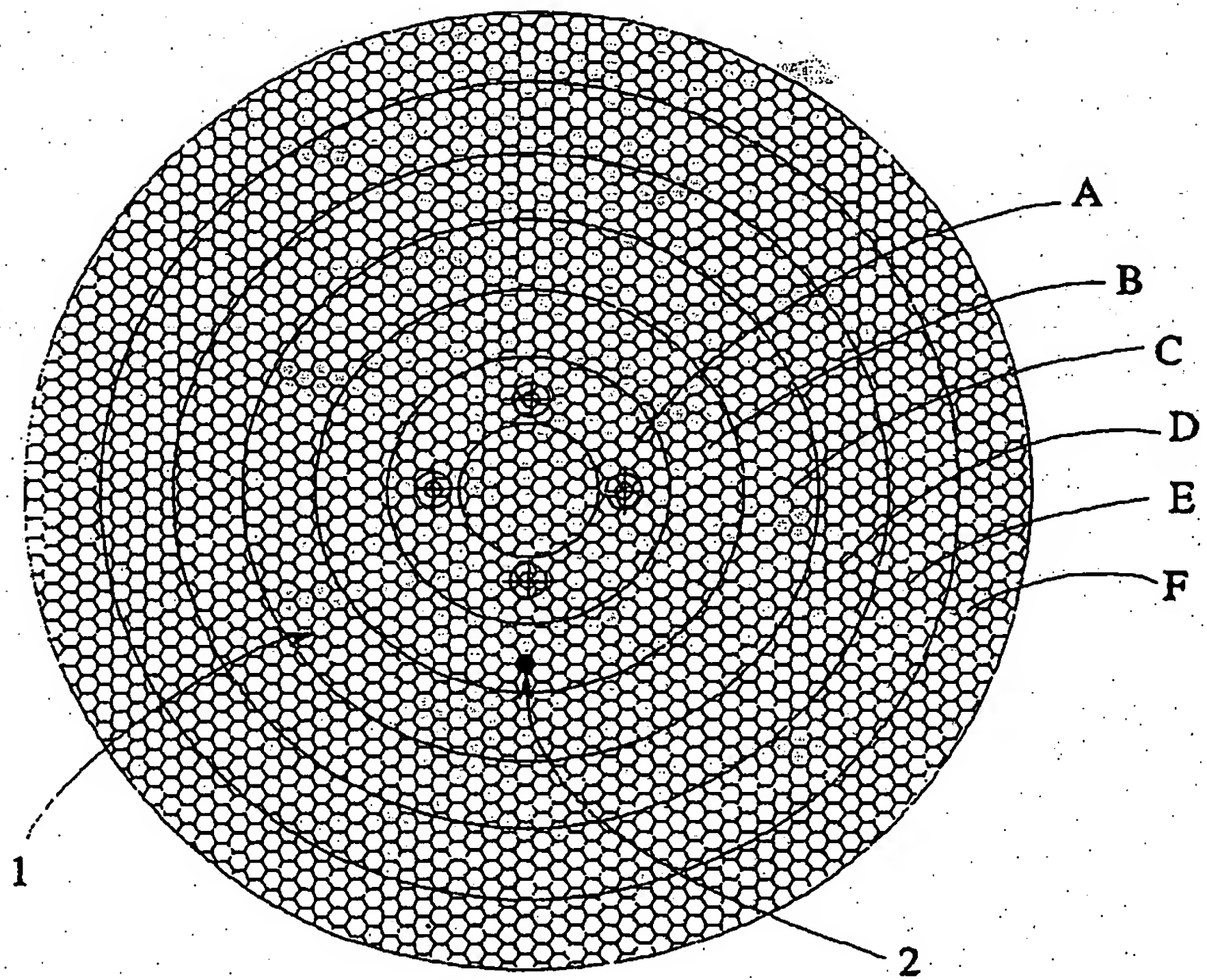
FIG. 17J





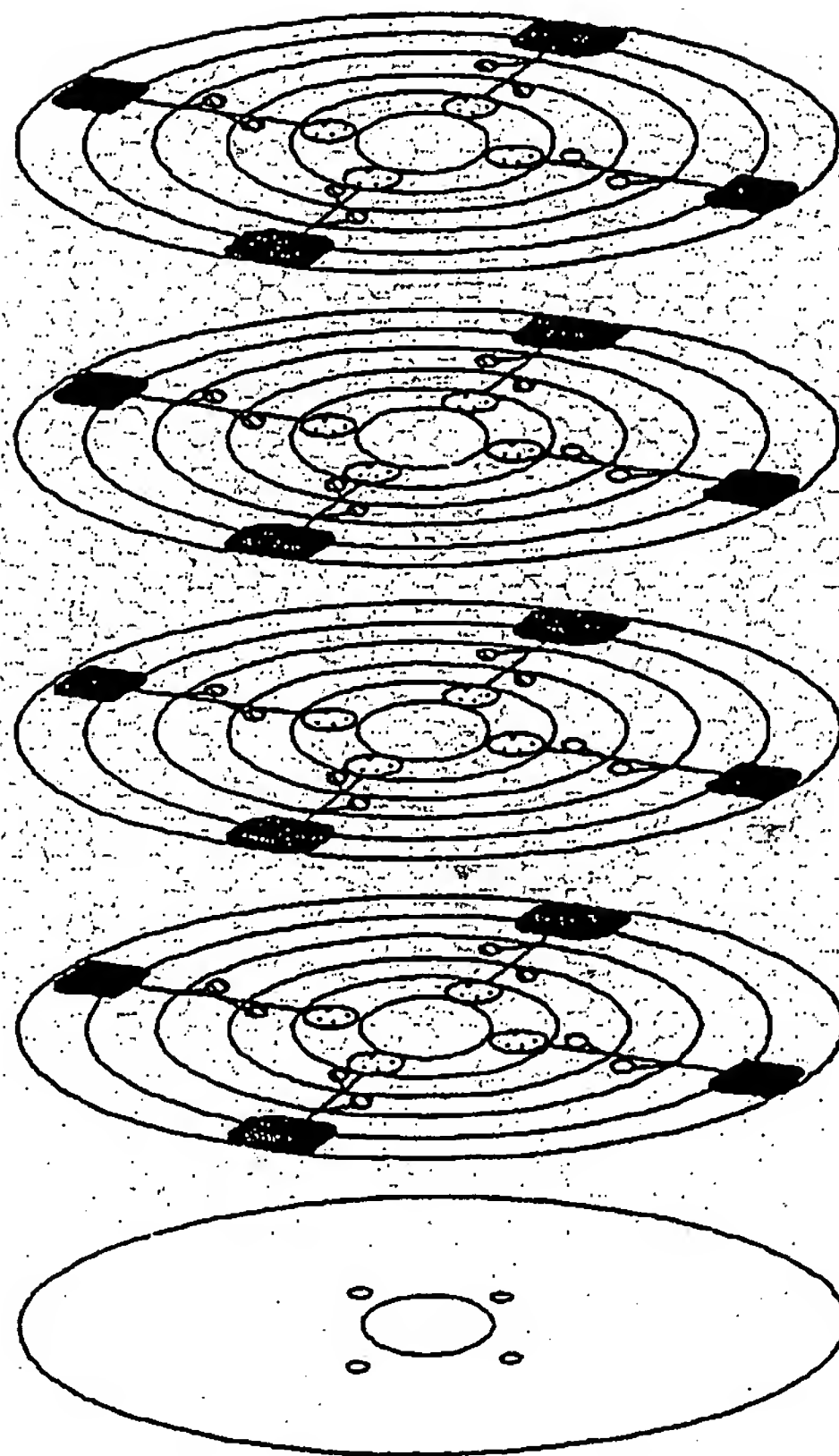
【図17】

FIG. 17K

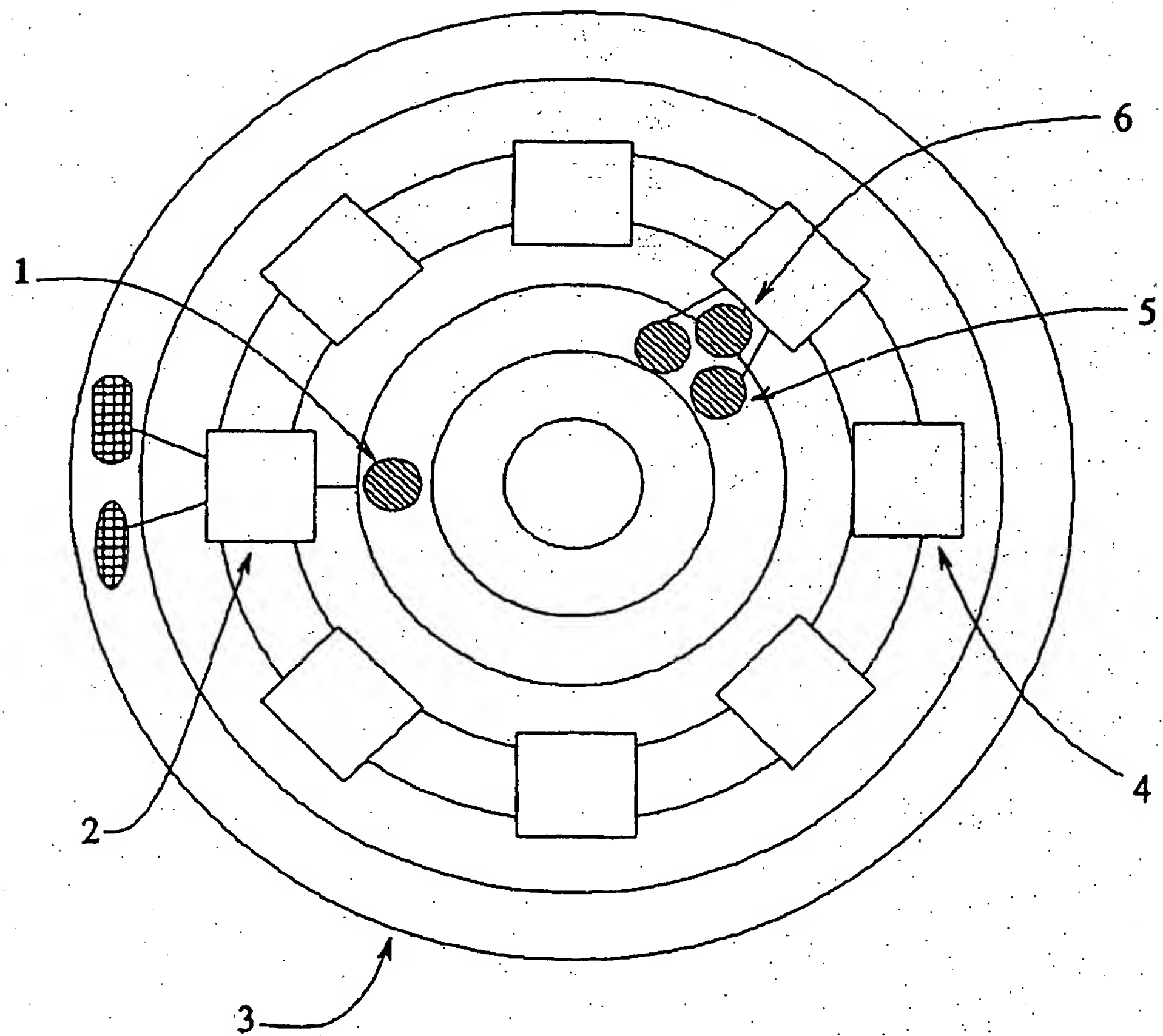


【図17】

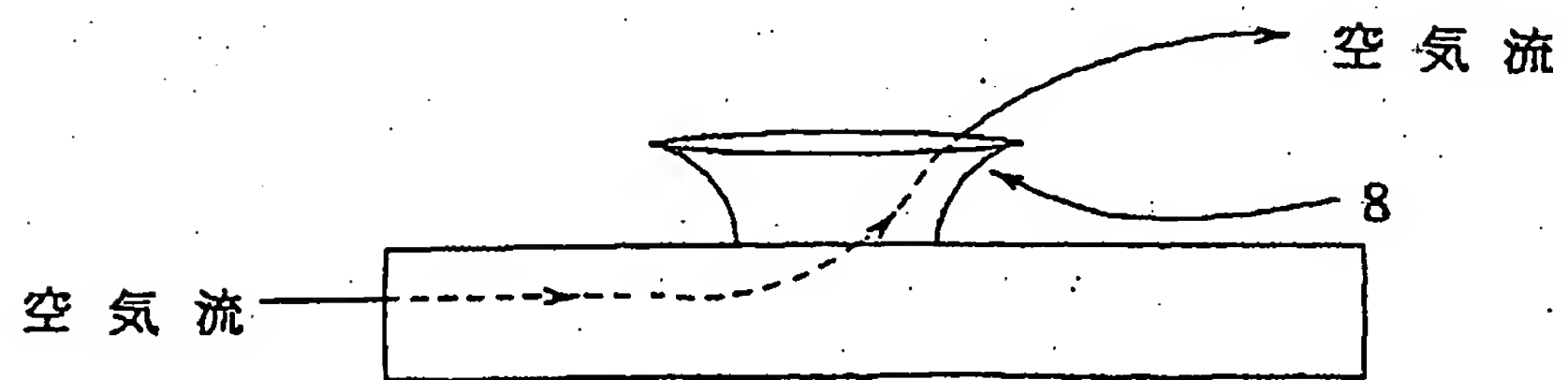
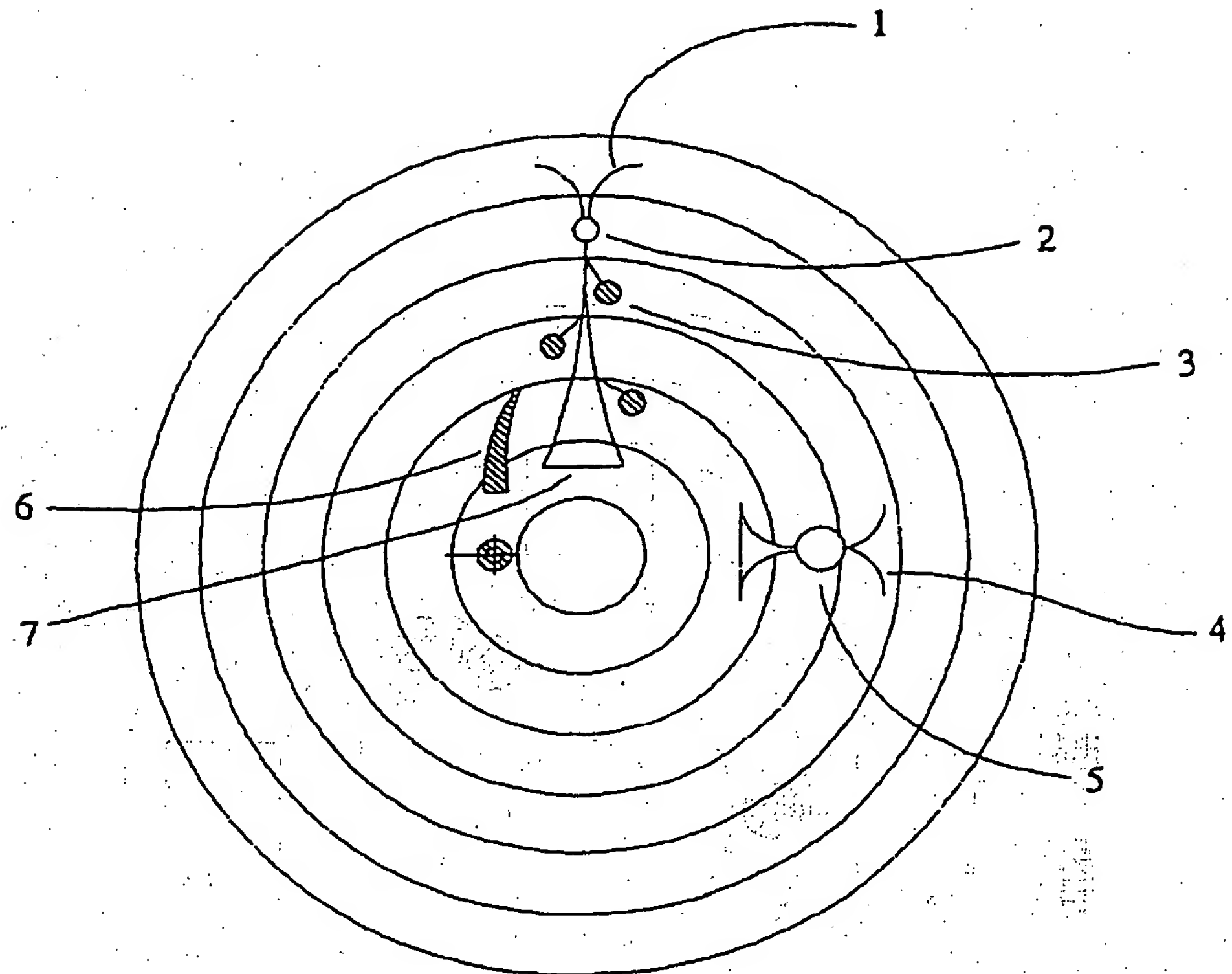
FIG. 17L



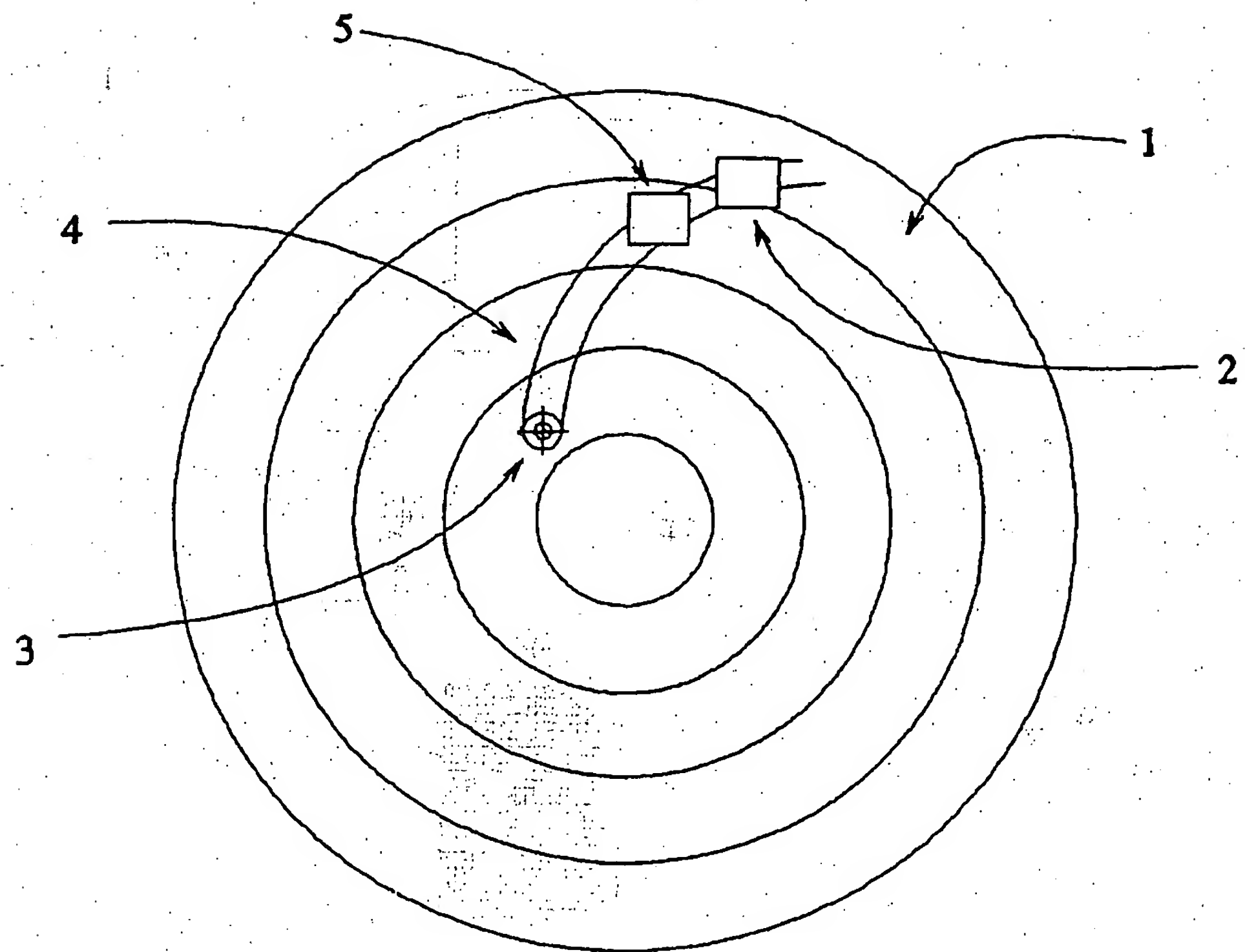
【図17】

FIG. 17M

【図17】

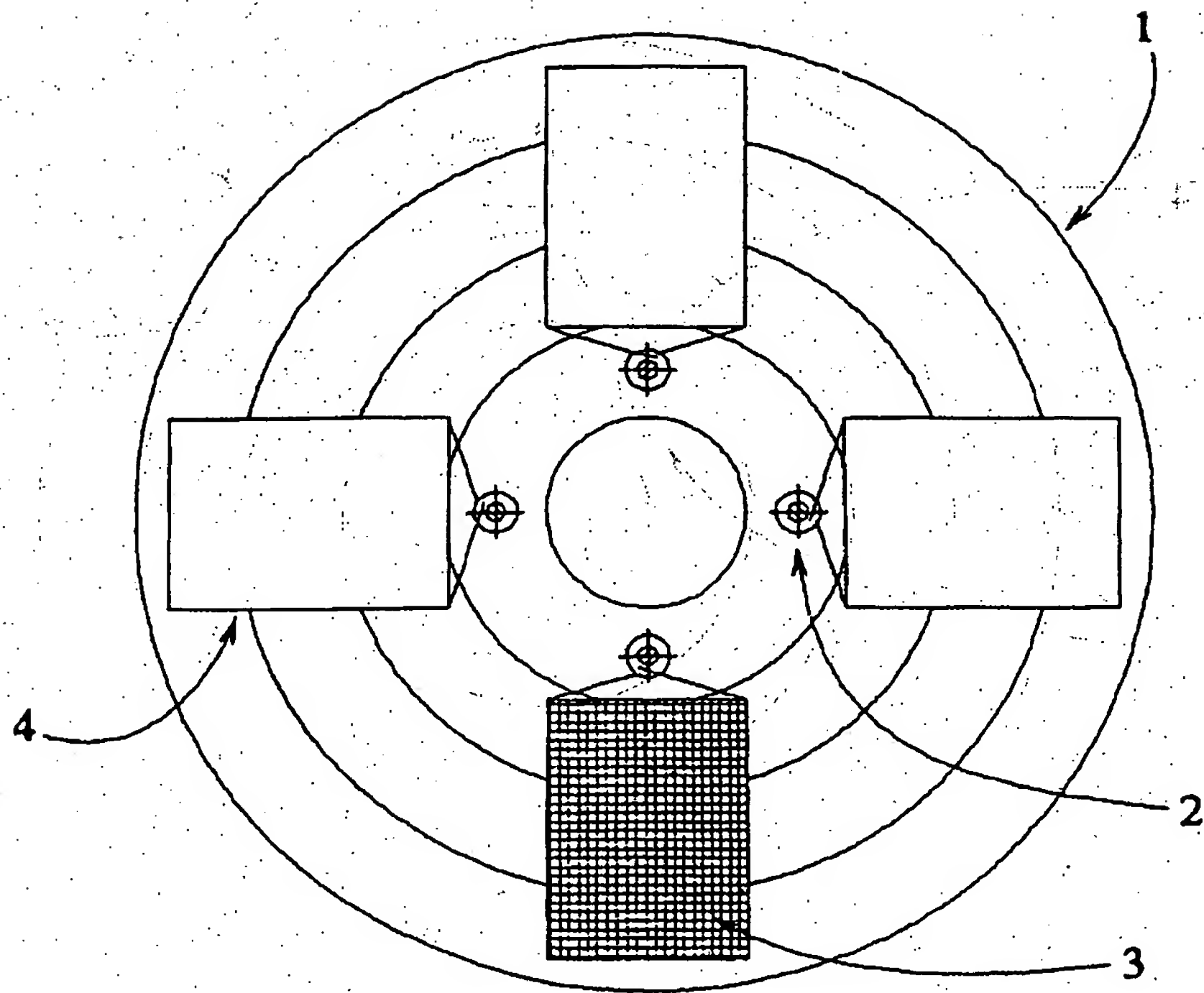
FIG. 17N

【図17】

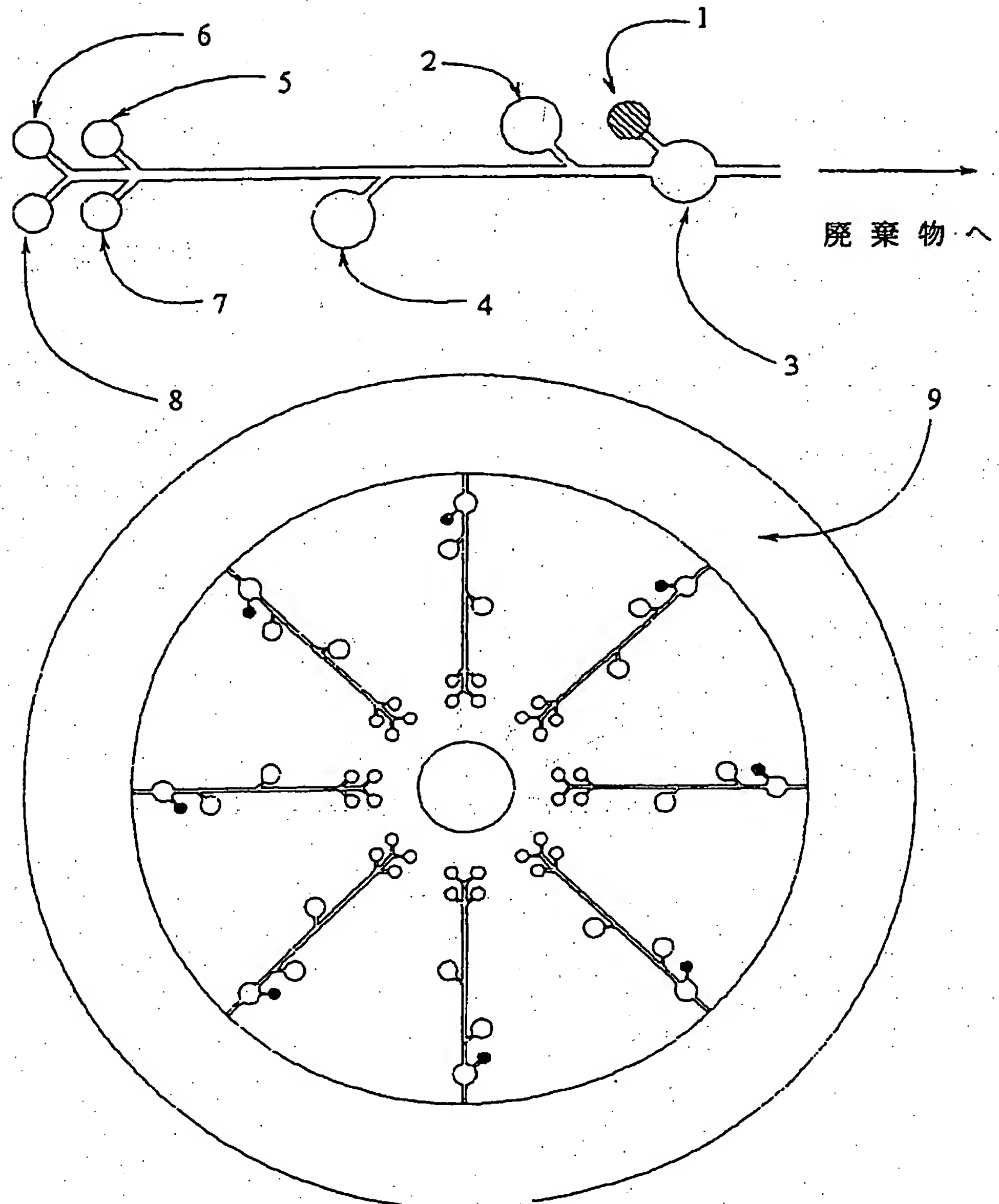
FIG. 170



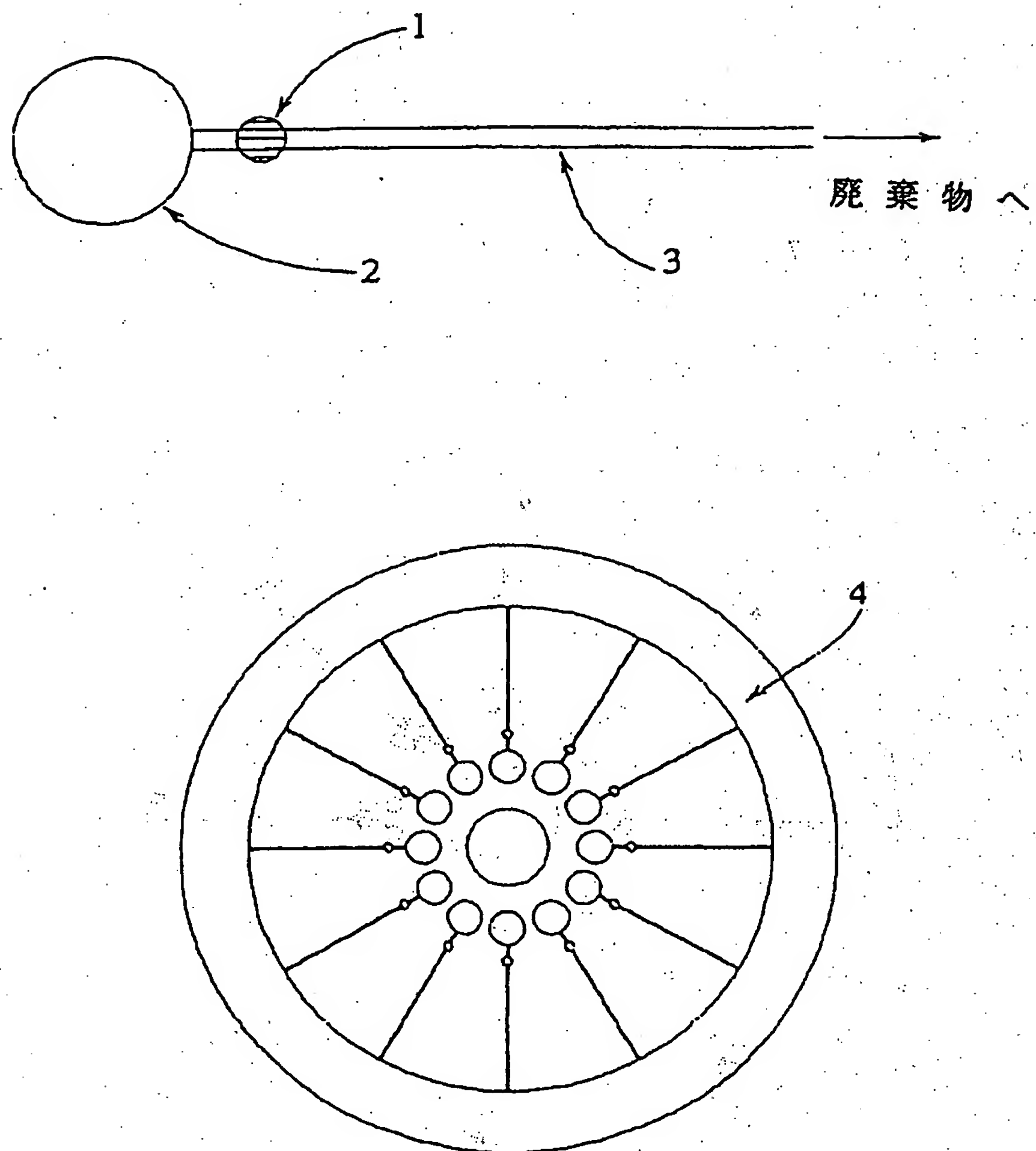
【図17】

FIG. 17P

【図17】

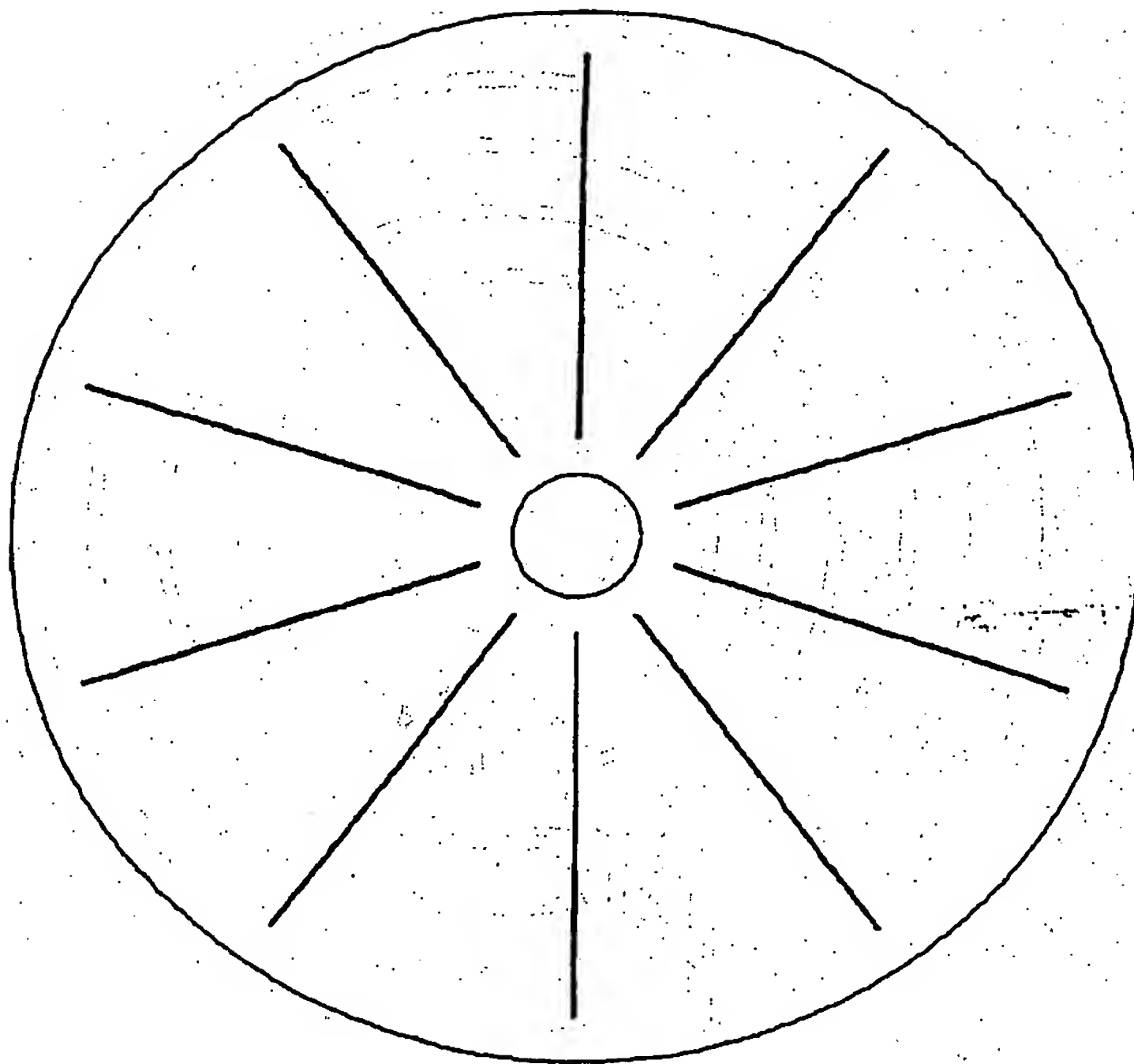
FIG. 17Q

【図17】

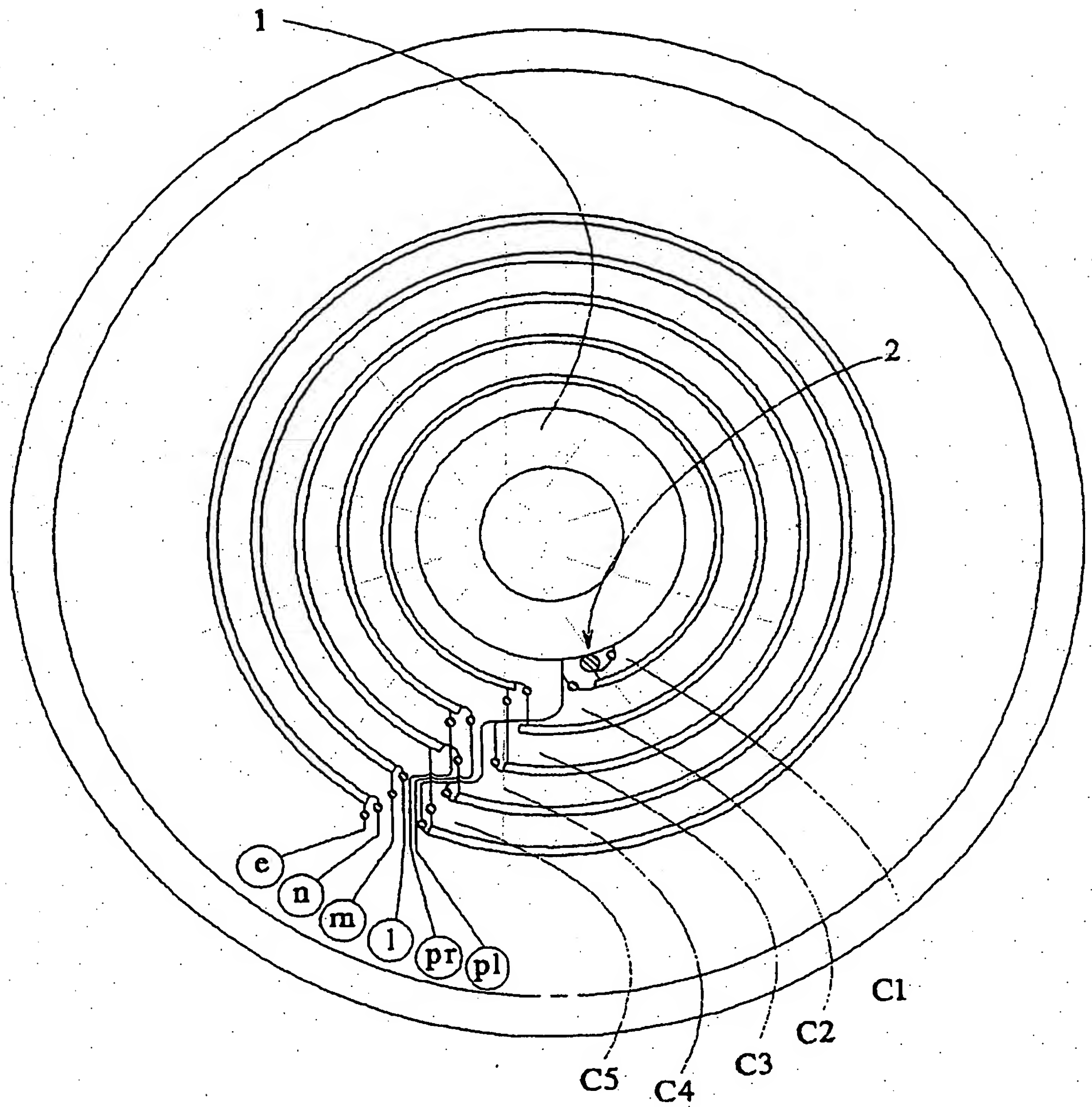
FIG. 17R

【図18】

FIG. 18

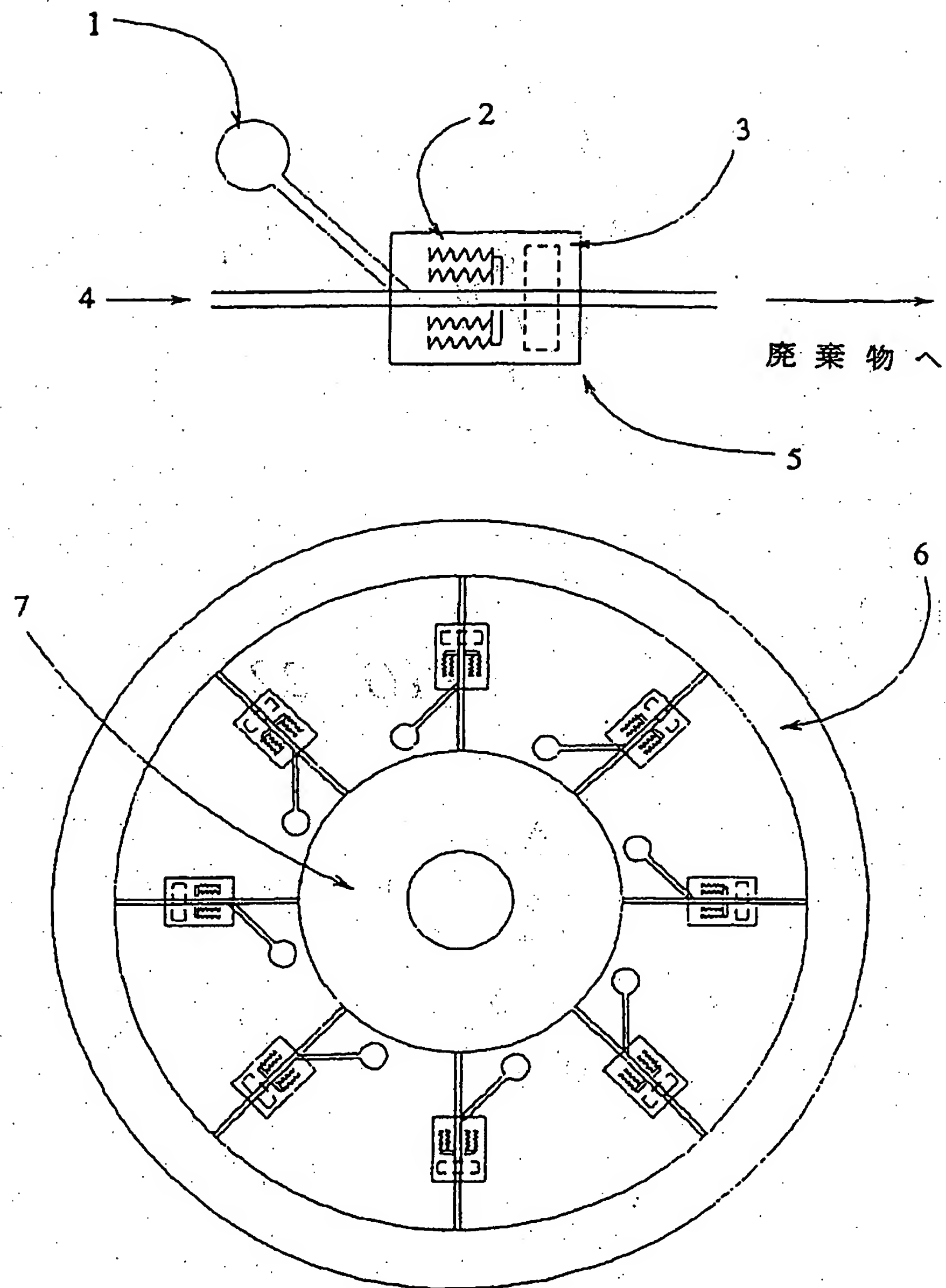


【図19】

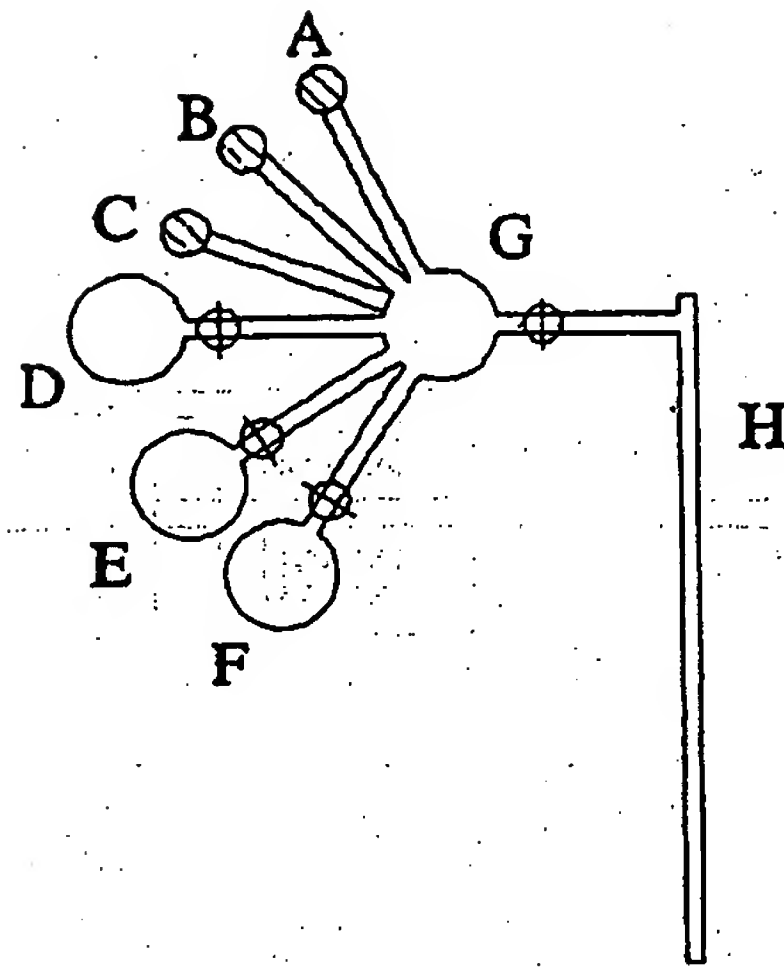
FIG. 19



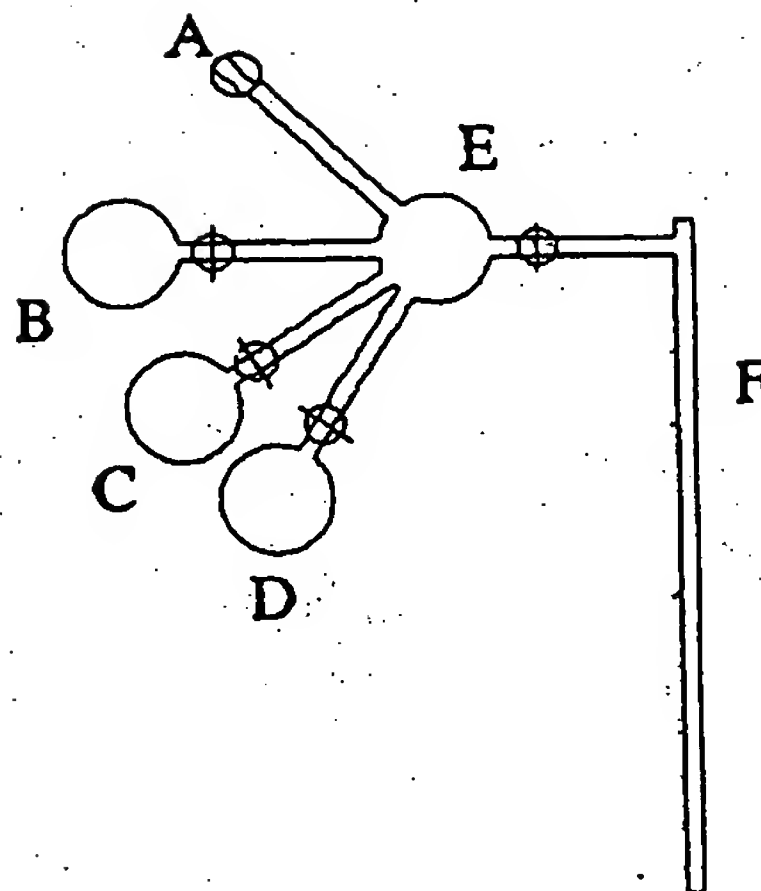
【図20】

FIG. 20

【図21】

FIG. 21

【図22】

FIG. 22

【図23】

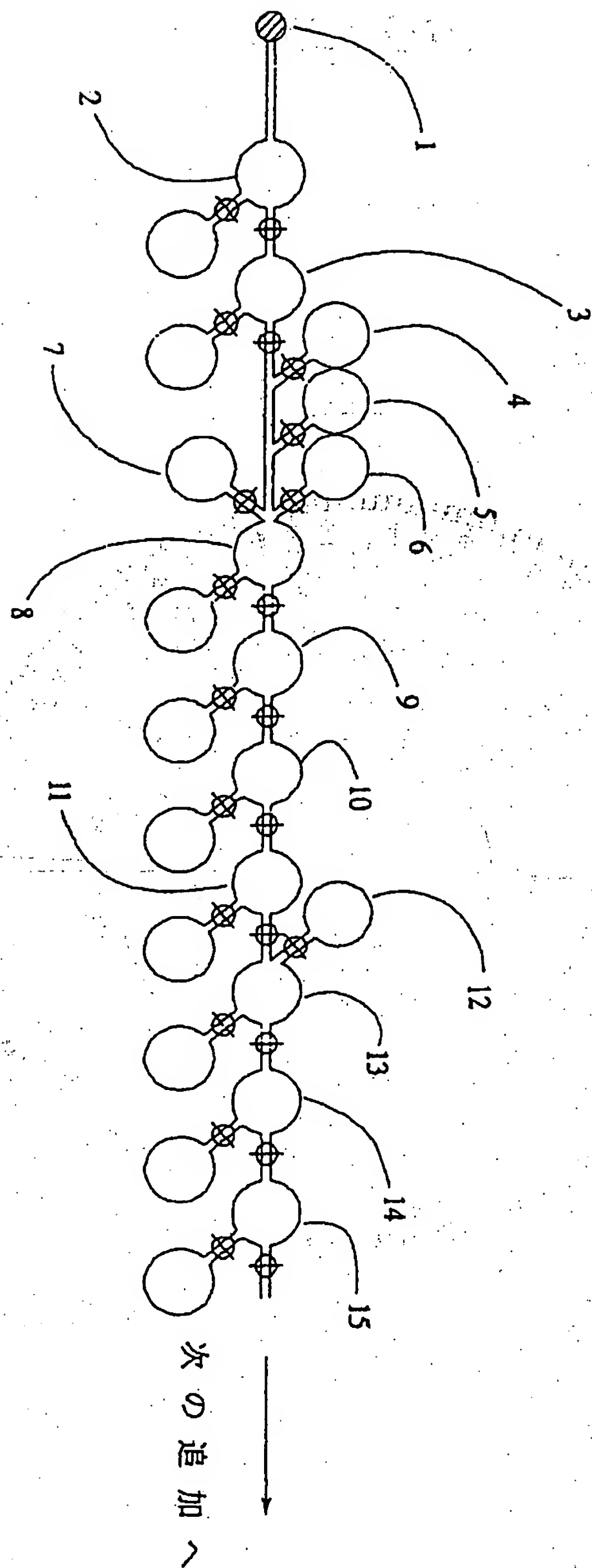
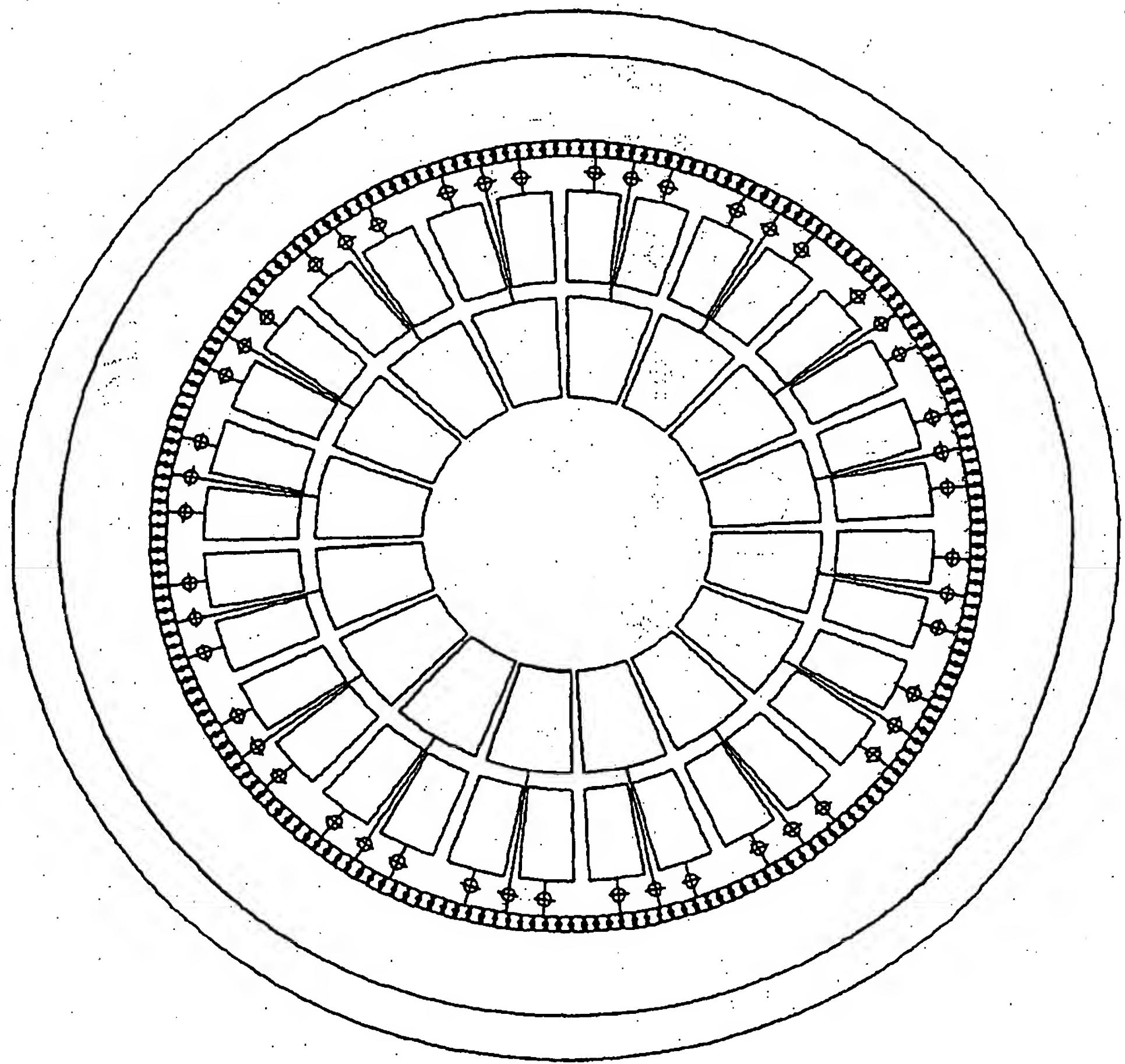


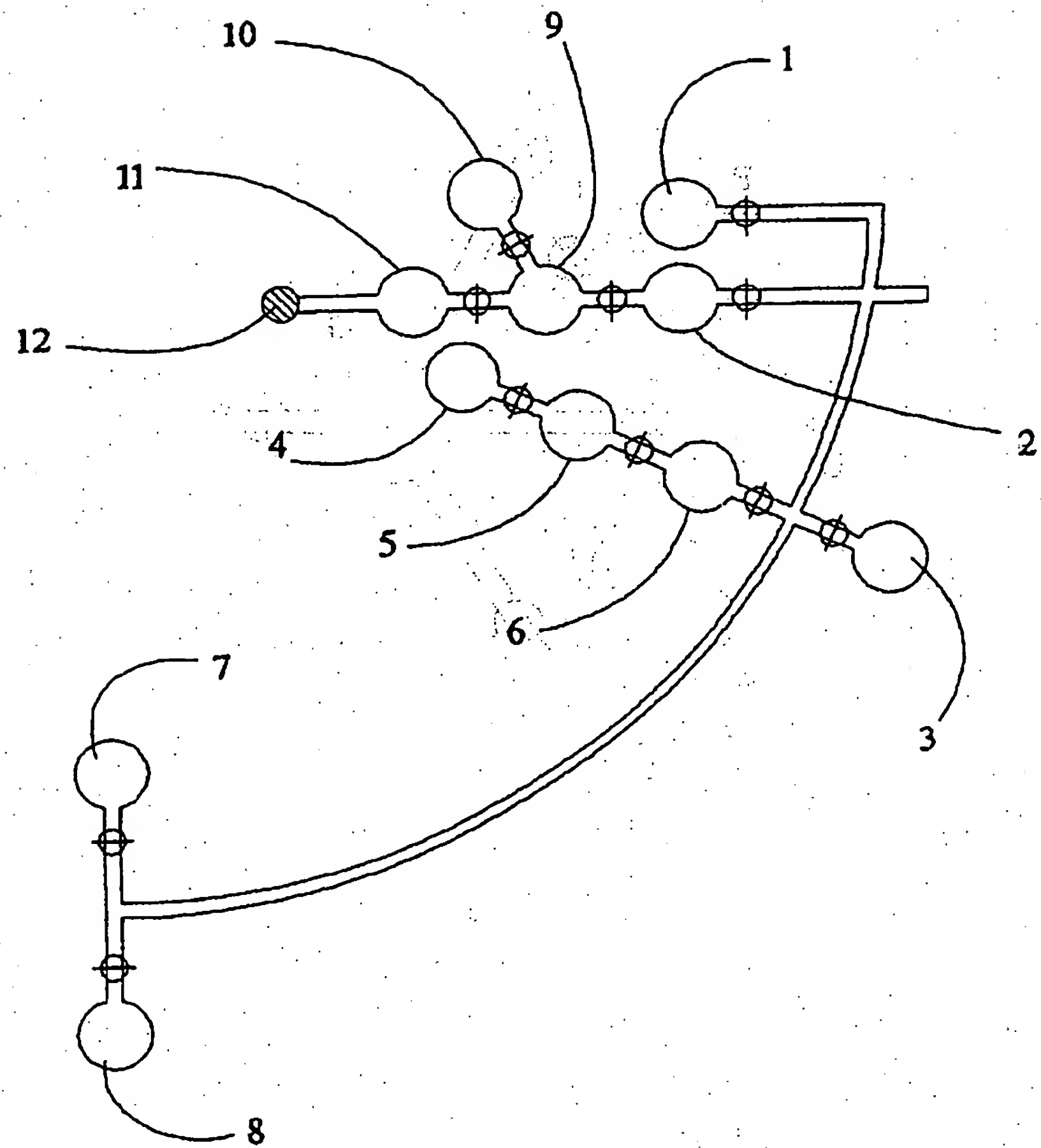
FIG. 23A

【図23】

FIG. 23B

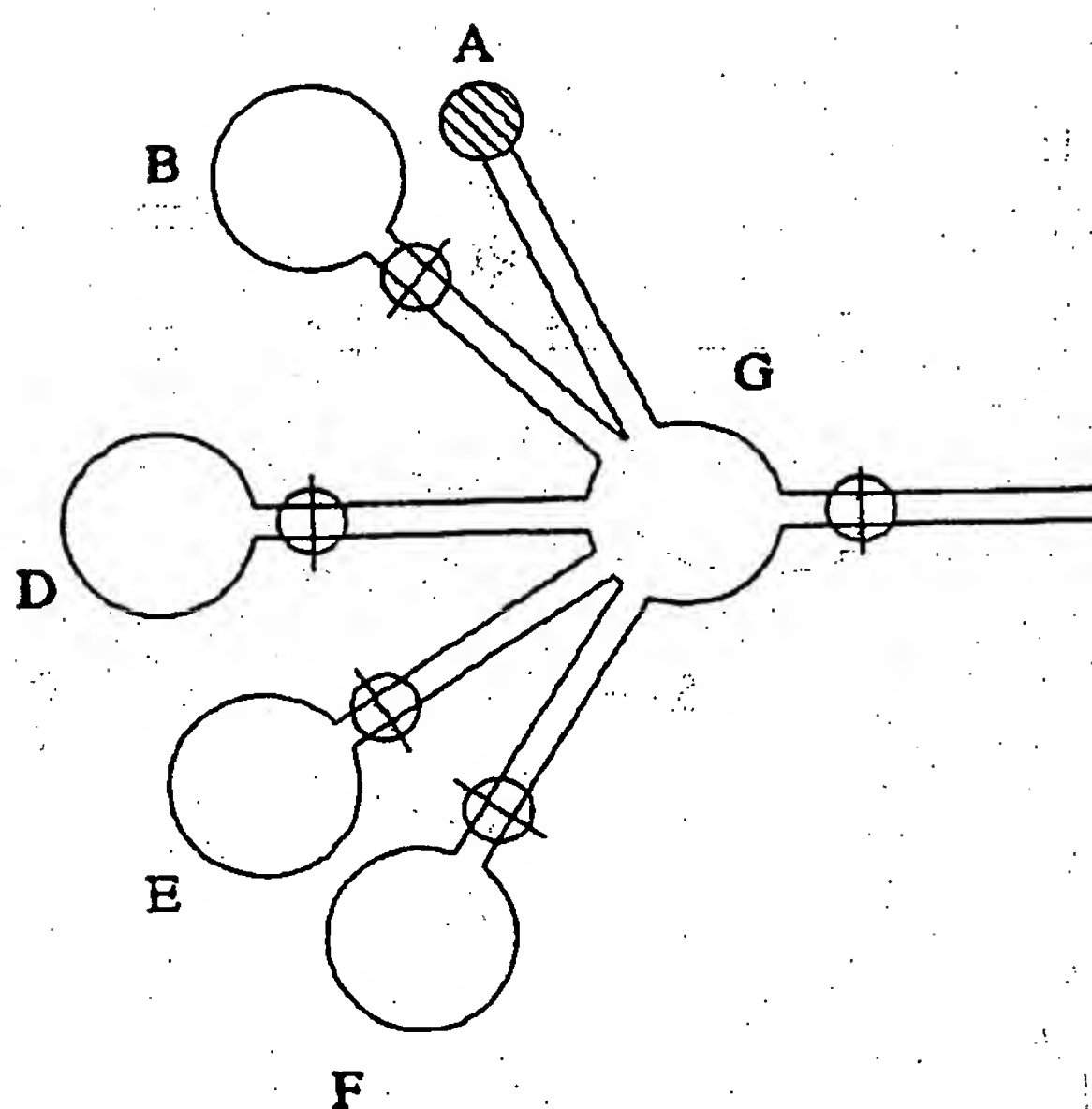


【図24】

FIG. 24

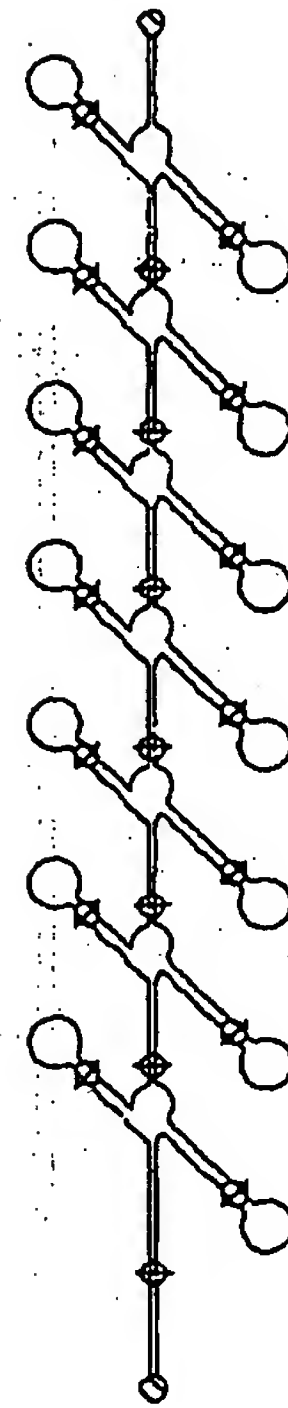


【図25】

FIG. 25

【図26】

FIG. 26



出口

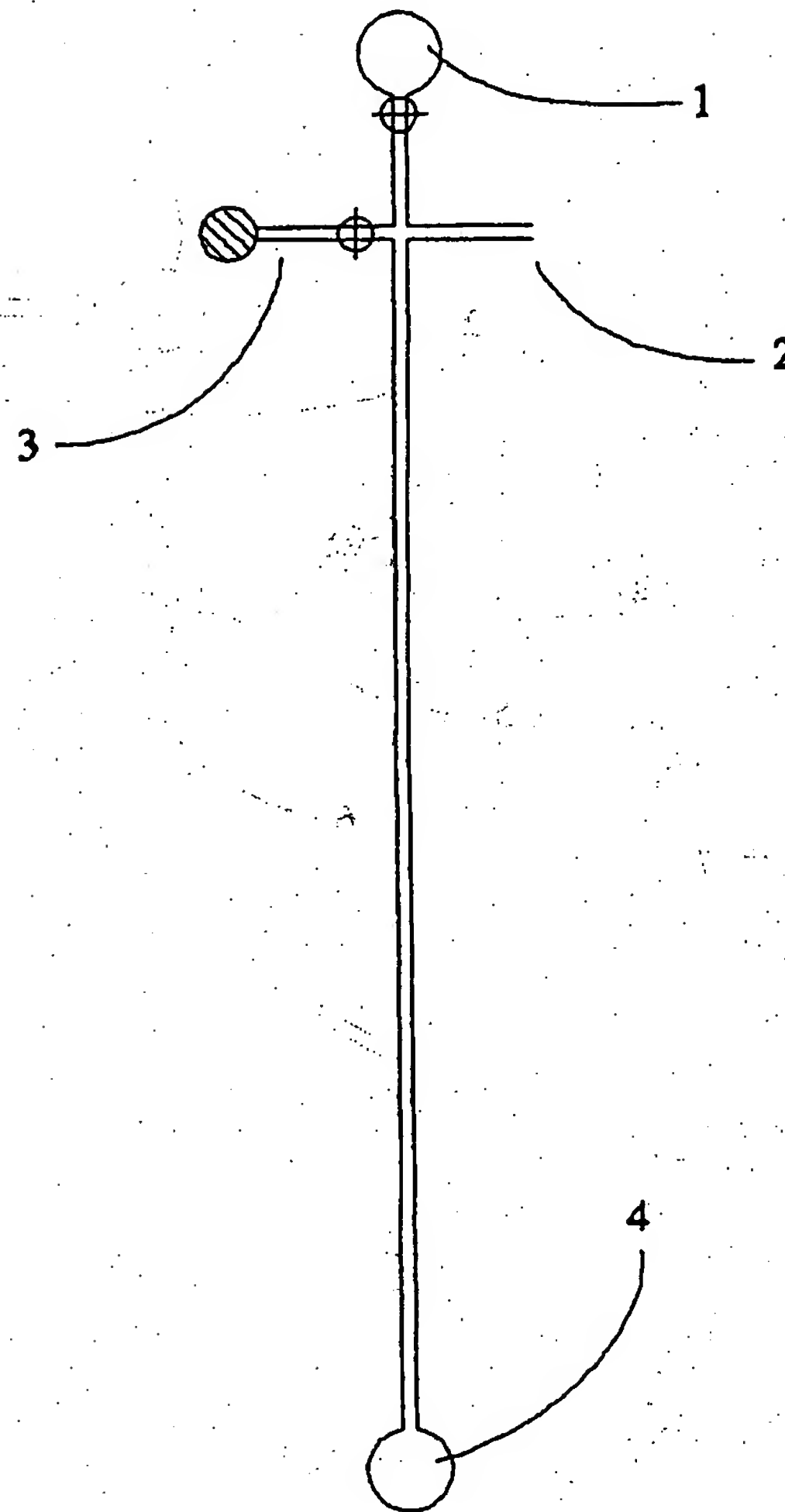
【図27】

FIG. 27



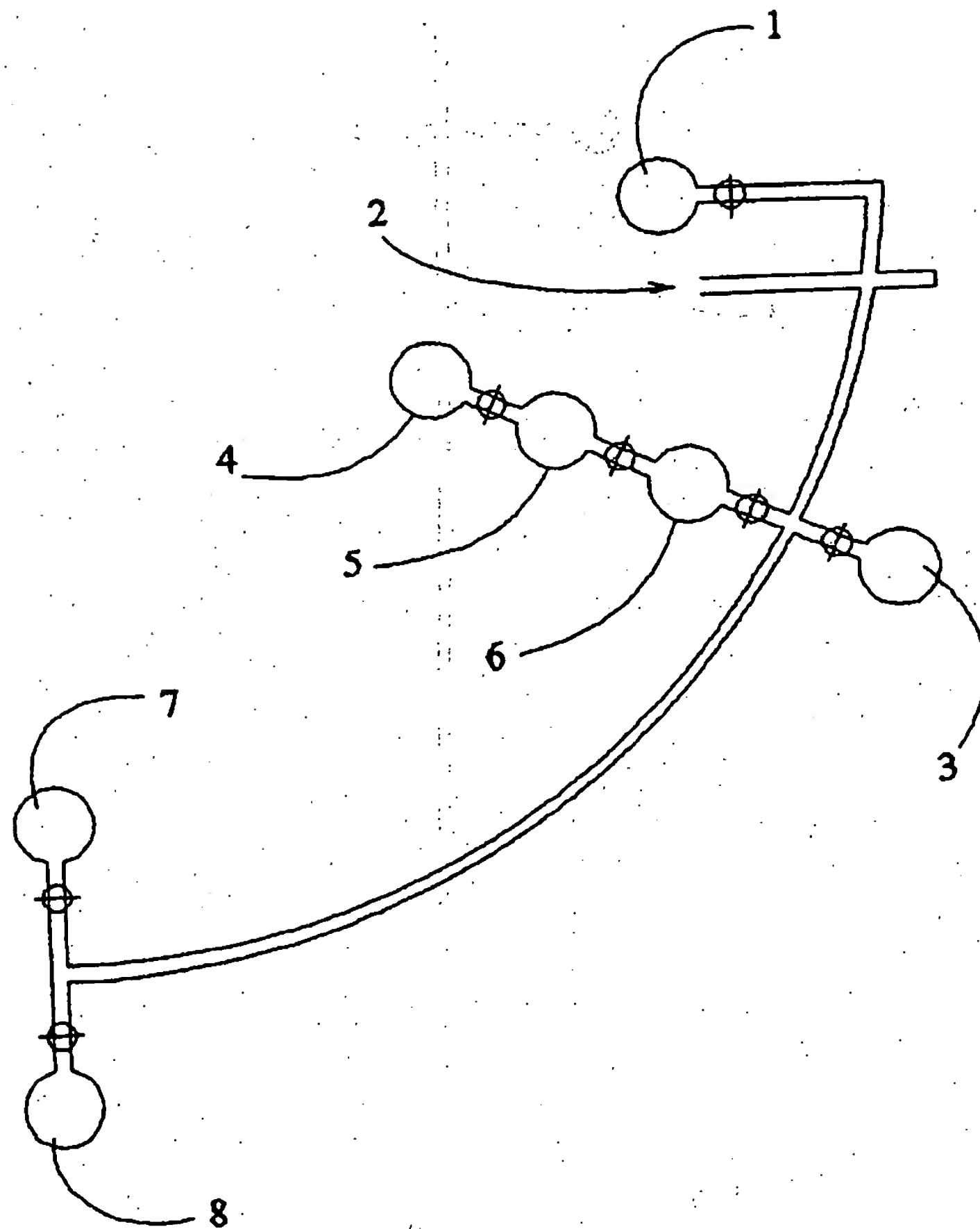
【図28】

FIG. 28



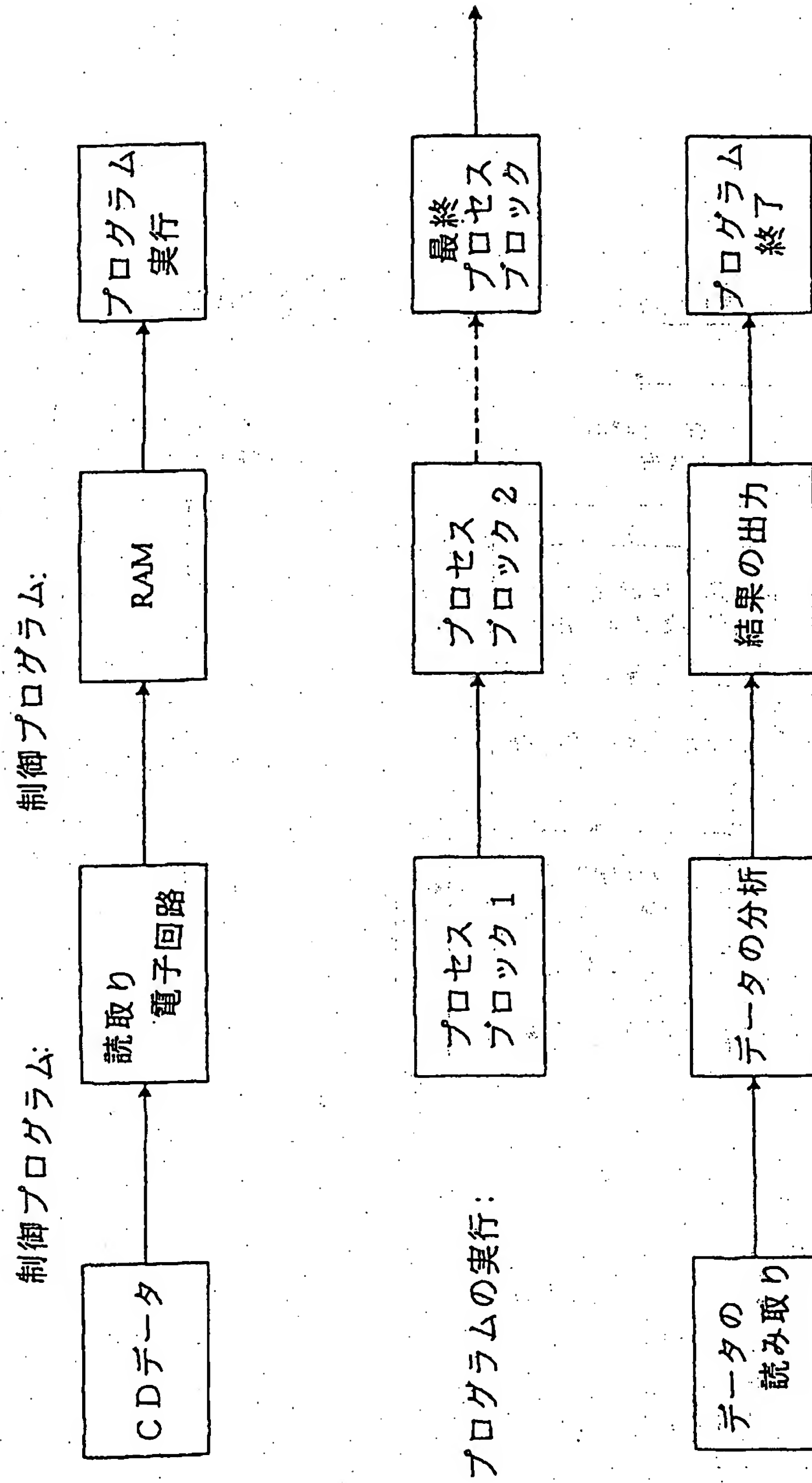
【図29】

FIG. 29



【図30】

FIG. 30

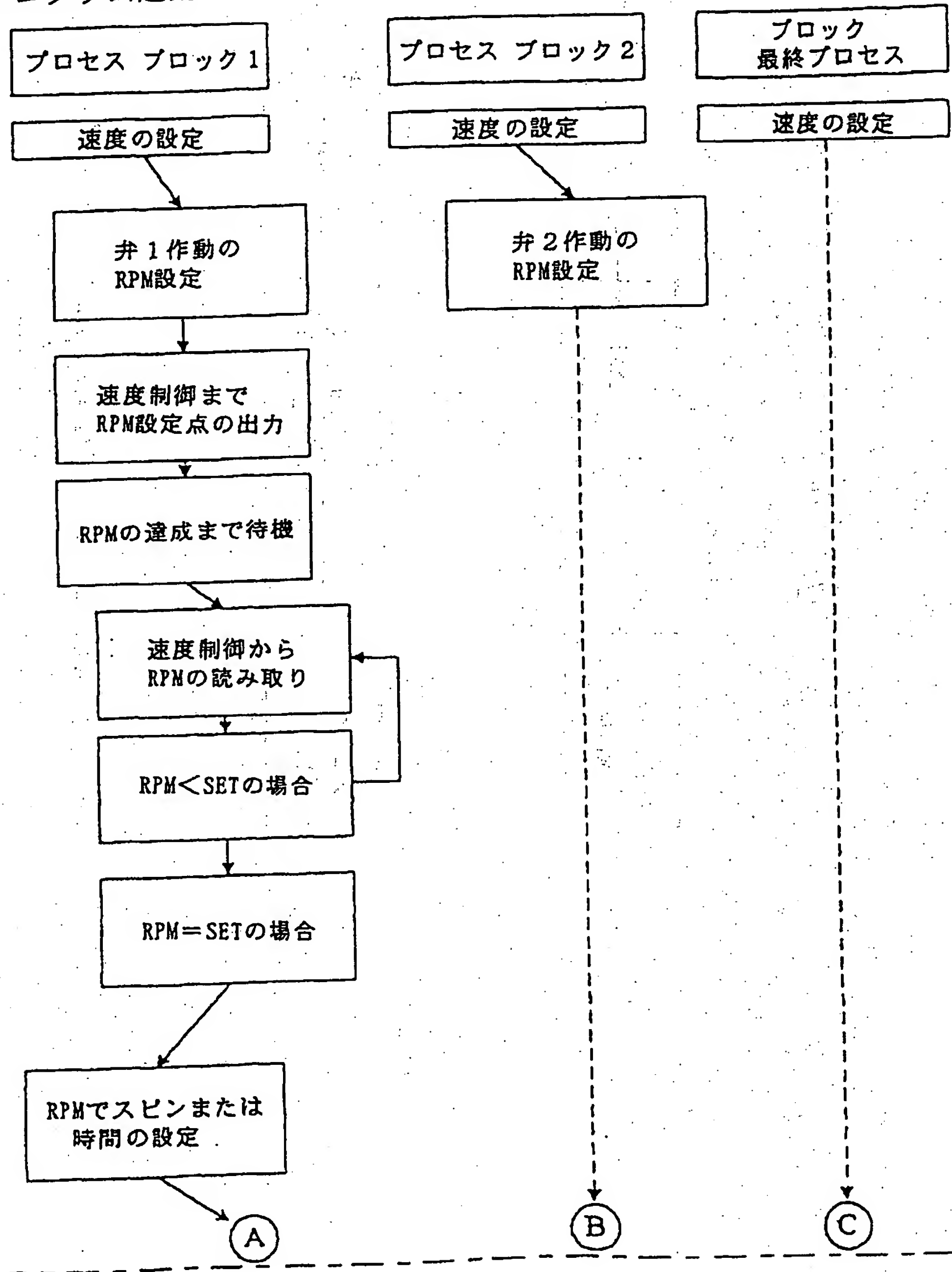




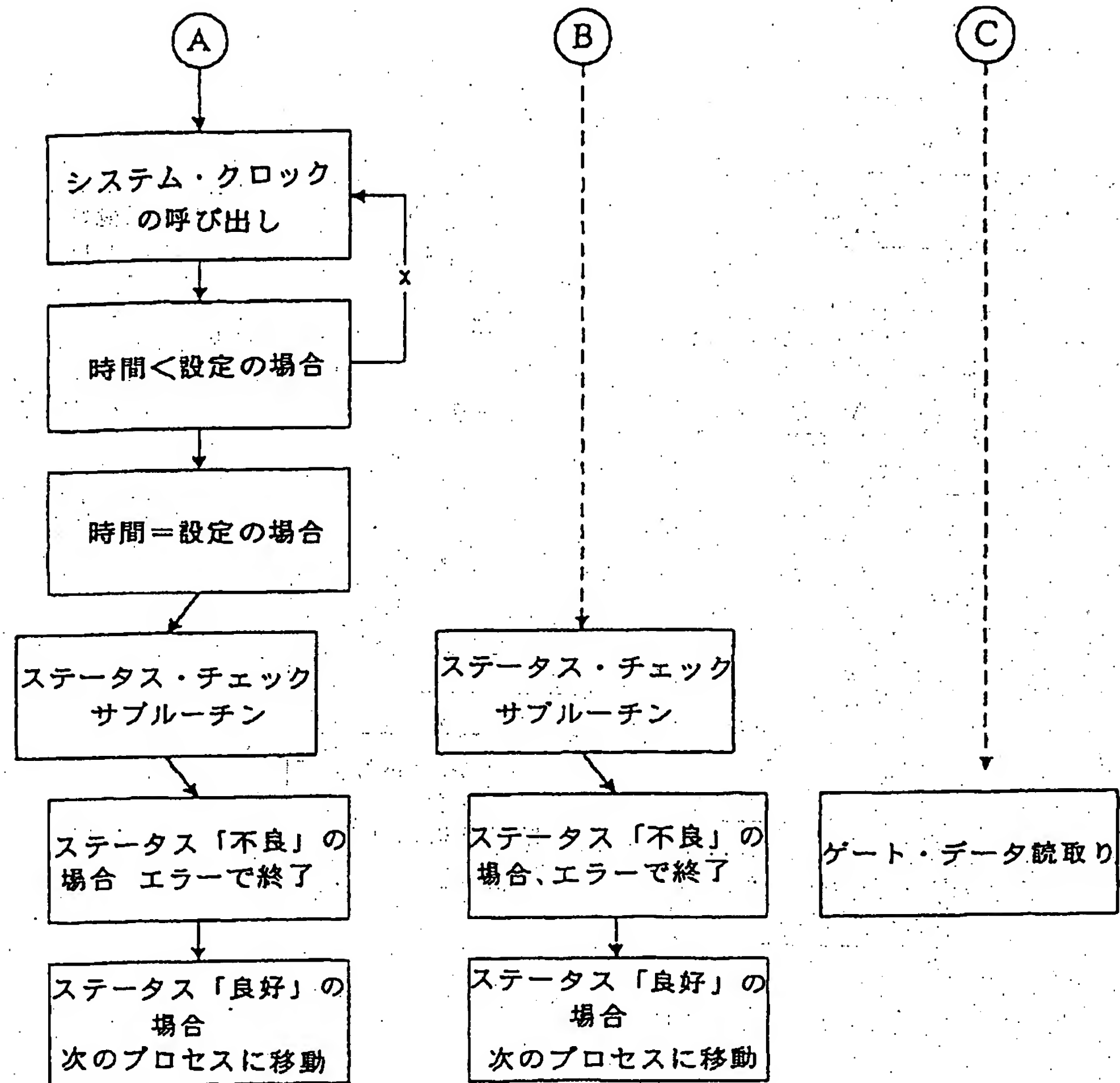
【図31】

FIG. 31A

プログラム起動



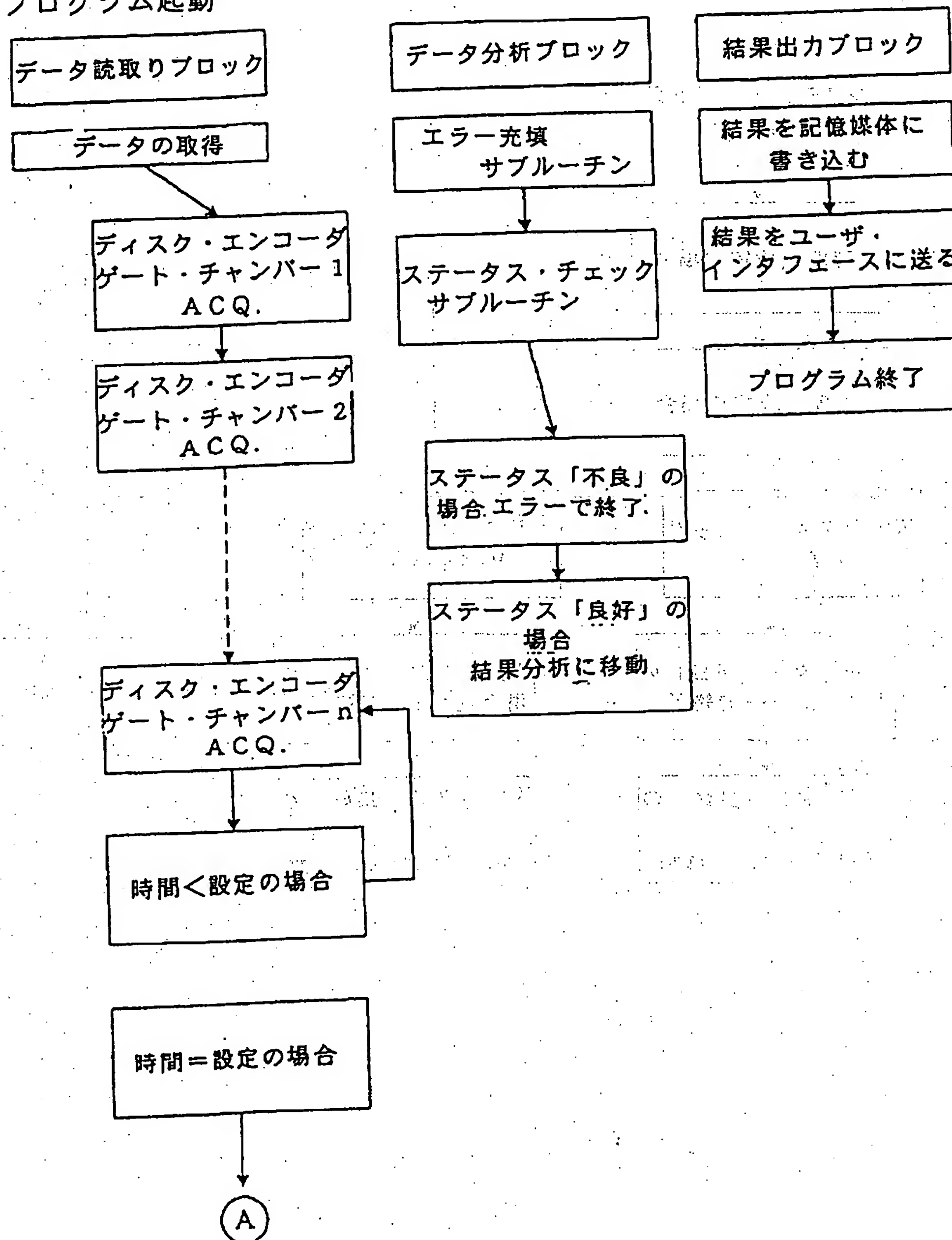
【図31】

FIG. 31B

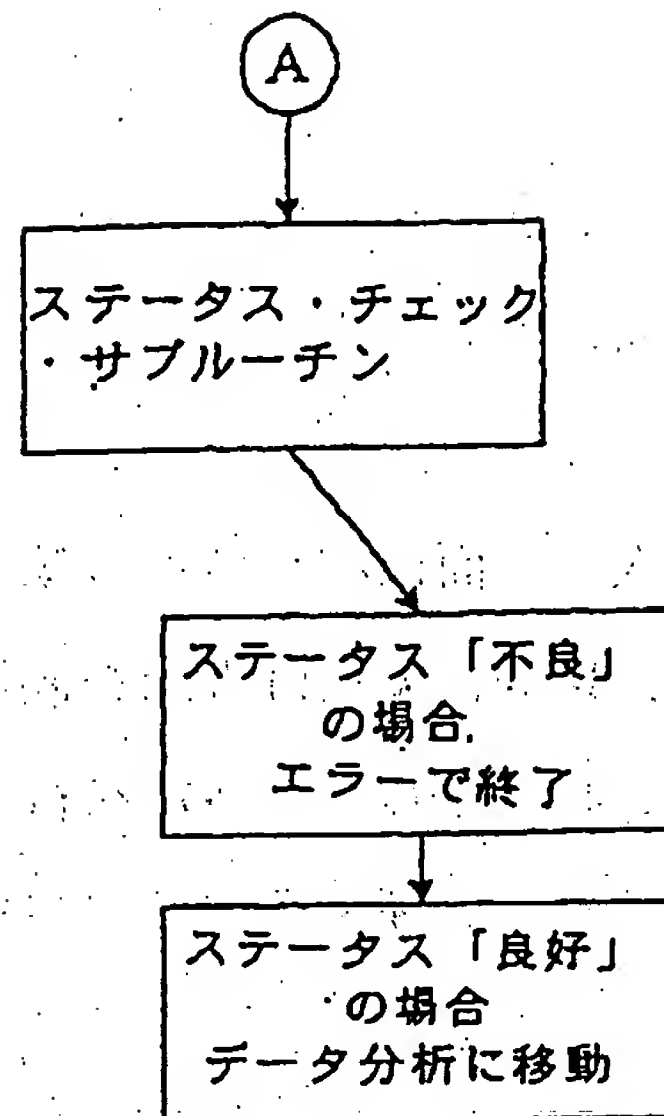
【図32】

FIG. 32A

プログラム起動



【図32】

FIG. 32B

## 【手続補正書】

【提出日】平成11年3月18日(1999. 3. 18)

## 【補正内容】

## 請求の範囲

1. 第1の平坦な二次元の面とそれに向かい合う第2の平坦な二次元の面を持つ基板を含み、第1面が、前記第1の二次元の面に埋め込まれる複数のマイクロチャンネルと検体入力手段を含み、検体入力手段とマイクロチャンネルが接続され、流体接触し、プラットフォームの第1の平坦な二次元の面に向かい合う第2の平坦な二次元の面が、プラットフォームの回転の速度、期間、または方向を制御するための電磁的に読取り可能な命令セットで符号化され、さらに、検定を行うための分析、診断又は品質管理の制御命令を含む命令セットを備えるマイクロシステム

・プラットフォームと、

回転手段がマイクロシステム・プラットフォームに機能的に作用するように連結され、それと回転接触する、基部、回転手段、電源およびユーザ・インタフェースを含む微小操作装置と操作制御手段と、

の組み合わせである向心的に動かされる流体微小操作機器であって、

プラットフォームのマイクロチャンネル内の多量の流体が、マイクロチャンネルを通して流体を移動させるのに十分な時間の間および回転速度でプラットフォームの回転運動から生じる向心力によって、前記マイクロチャンネルを通して移動される、

向心的に動かされる流体微小操作機器。

2. 第1の平坦な二次元の面とそれに向かい合う第2の

平坦な二次元の面のある基板を含み、第1面が、前記第1の二次元の面に埋め込まれる複数のマイクロチャンネル、および検体入力手段を含み、検体入力手段及びマイクロチャンネルが接続され流体接触し、プラットフォームの第1の平坦な二次元の面に向かい合う第2の平坦な二次元の面が、プラットフォームの回転の速度、期間または方向を制御するために電磁的に読取り可能な命令セットで符号化され、さらに、検定を行うための分析、診断又は品質管理を含む命令セットを備えるマイクロシステム・プラットフォームと；

回転手段がマイクロシステム・プラットフォームに機能的に作用して、それと回転接触して連結され、操作制御手段はプラットフォームの第2の2次元の面に設置される命令セットを含む命令により方向づけられる、基部、回転手段、電源およびユーザ・インタフェースを含む微小操作装置と、操作制御手段と；

の組み合わせである向心的に動かされる液体微小操作機器であって、

プラットフォームのマイクロチャネル内の多量の流体が、マイクロチャネルを通して液体を移動させるのに十分な時間の間および回転速度でプラットフォームの回転運動から生じる向心力によって、前記マイクロチャネルを通して移動される向心的に動かされる流体微小操作機器。

3. 第1の平坦な二次元の面とそれに向かい合う第2の平坦な二次元の面のある基板を含み、第1面が、第1の

2次元の面に埋め込まれる複数のマイクロチャネルおよび検体入力手段を含み、検体入力手段及びマイクロチャネルが接続され流体接触し、及び、液流は、液流の流れを容易しに又は妨げるようにマイクロチャネルの表面外形を変化させることによりマイクロチャネルを通して方向づけられ、

プラットフォームの第1の平坦な二次元の面に向かい合う第2の平坦な二次元の面が、プラットフォームの回転の速度、期間または方向を制御するための電磁的に読取り可能な命令セットで符号化され、さらに、検定を行うための分析、診断又は品質管理命令を含む命令セットを備えるマイクロシステムプラットフォームと；

回転手段が、マイクロシステム・プラットフォームに機能的に作用して、それと回転接触して連結され、前記操作制御手段はプラットフォームの第2の平坦面に設置される命令セットを含む命令により方向づけられる、基部、回転手段、電源、およびユーザ・インタフェースを含む微小操作装置と操作制御手段と；の組み合わせである向心的に動かされる液体微小操作機器であって、

プラットフォームのマイクロチャネル内の多量の流体が、マイクロチャネルを通して流体を移動させるのに十分な時間の間および回転速度でプラットフォームの回転運動から生じる向心力によって前記マイクロチャネルを通して移動され、及びマイクロチャネルを通して流体を移動させるのに、十分な回転速度はマイクロチ



チャンネルの表面

外形に依存し、ディスクの中心近くからディスクの単部の位置までの流体の移動は回転速度の増加に依存する向心的に動かされる流体微小操作機器。

4. マイクロシステム・プラットフォームが、前記第1の二次元面に埋め込まれた複数のマイクロチャンネル、反応チャンバー及び試薬貯蔵器を更に含む請求項1、2又は3に記載の機器。

5. マイクロシステム・プラットフォームが、第1の二次元面に埋め込まれた複数のマイクロチャンネル、反応チャンバー及び試薬貯蔵器並びに試料入力手段を備え、試薬入力手段、マイクロチャンネル、反応チャンバー及び試薬貯蔵器は接続され流体接触し、マイクロチャンネル、反応チャンバー及び試薬貯蔵器からの流体は接続されるマイクロ弁により制御される請求項1、2又は3に記載の機器。

6. マイクロシステム・プラットフォームの第1の平坦な二次元の面と第2の平坦な二次元の面がディスクを形成する、請求項1、2又は3に記載の機器。

7. マイクロシステム・プラットフォームの第1と第2の平坦な二次元の面が、微小操作装置上のスピンドルに取り付けられる向心的に配置される開き口を限定し、それによりスピンドルの回転運動がマイクロシステム・プラットフォームの回転運動に変換される、請求項1、2又は3に記載の機器。

8. マイクロシステム・プラットフォームが、有機物質、無機物質、結晶質物質、および非晶質物質から成り立つ

グループから選択される材料から構成される、請求項1、2又は3に記載の機器。

9. マイクロシステム・プラットフォームが、さらに、珪素、シリカ、石英、セラミック、金属またはプラスチックから成り立つグループから選択される材料を含む、請求項1、2又は3に記載の機器。

10. マイクロシステム・プラットフォームが、約1 cmから25 cmの半径のディスクである、請求項6に記載の機器。

11. マイクロシステム・プラットフォームが約0.1 mmから100 mmの厚さ

であり、第1と第2の平坦な二次元面の間のマイクロチャネルの断面寸法が500 $\mu$ mを下回り、プラットホームの前記断面寸法の1パーセントから90パーセントである、請求項1、2又は3に記載の機器。

12. マイクロシステム・プラットホームが約0.1mmから100mmの厚さであり、第1と第2の平坦の二次元面の間の反応チャンバーまたは試薬貯蔵器の断面寸法が、プラットホームの前記厚さの1パーセントから75パーセントである、請求項4又は5に記載の機器。

13. マイクロシステム・プラットホームが、約1rpmから約30,000rpmの回転速度で回転される、請求項1、2又は3に記載の機器。

14. マイクロシステム・プラットホームが、複数の検体入力手段、試薬貯蔵器、反応チャンバー、およびそれ

に接続され、その中に埋め込まれるマイクロチャネルを含み、検体を含む多量の流体が、マイクロシステム・プラットホームの回転から生じる向心力により、ディスク上で検体入力手段から反応チャンバーの中に、および反応チャンバーから移動され、多量の試薬が試薬貯蔵器から反応チャンバーの中に、および反応チャンバーから移動される、請求項4又は5に記載の機器。

15. マイクロシステム・プラットホームが、プラットホームの第1の平坦な二次元面内に埋め込まれ、マイクロチャネルに接続される検出チャンバーを含み、微小操作装置が、検出チャンバーがアッセイ出力を出すために、検出手段によって検定される検出手段を含む、請求項1、2又は3に記載の機器。

16. 装置上の検出手段が、マイクロシステム・プラットホームの回転運動によりプラットホーム上の検出チャンバーと位置合わせされる、請求項15に記載の機器。

17. 検出手段が光源と光検出器を含む、請求項15に記載の機器。

18. 光源が検出チャンバーを照明し、光が検出チャンバーを通して横に反射され、光検出器により検出される、請求項17に記載の機器。

19. マイクロシステム・プラットホーム上の検出チャンバーが光学的に透明である、請求項18に記載の機器。

20. 検出手段が静止しており、プラットホームの回転の頻度またはその倍数に等しい頻度で検出チャンバーを

サンプリングする、請求項16に記載の機器。

21. 検出手段がストロボスコープ光源を含む、請求項20に記載の機器。

22. 検出手段が単色光源である、請求項21に記載の機器。

23. 検出手段が、光学的吸光度、蛍光、化学ルミネセンス、光分散または放射能を検出する、請求項15に記載の機器。

24. さらに、マイクロプラットホームと熱接触する温度調節要素を含む、請求項1、2、3、4又は5に記載の機器。

25. さらに、マイクロプラットホームと熱接触する熱検出手段を含む、請求項1、2、3、4又は5に記載の機器。

26. マイクロシステム・プラットホームが、マイクロチャンネルに連結される濾過手段を含む、請求項1、2、3、4又は5に記載の機器。

27. マイクロシステム・プラットホームが、反応貯蔵器またはマイクロチャンネルに接続される混合要素を含む、請求項1、2、3、4又は5に記載の機器。

28. マイクロシステム・プラットホームが、反応貯蔵器またはマイクロチャンネルのきめが出された面を含む静的混合機を含む、請求項27に記載の機器。

29. マイクロシステム・プラットホームが、反応チャンバーまたはマイクロチャンネルに接続される毛細管マイ

クロ弁を含む、請求項4又は5に記載の機器。

30. マイクロシステム・プラットホームが、複数の空気チャンネル、排気ポートおよび空気排気量チャンネルをさらに含む、請求項1、2、3、4又は5に記載の機器。

31. 微小操作装置の回転手段が電気モーターである、請求項1、2又は3に記載の機器。

32. 微小操作装置が、マイクロシステム・プラットホームの回転の加速と速度を制御するための回転運動制御手段を含む、請求項1、2又は3に記載の機器。

33. 微小操作装置が、モニタと英数字キーパッドを含むユーザ・インタフェースを具備する、請求項1、2又は3に記載の機器。

34. 微小操作装置が、交流電源または直流電源を含む、請求項1、2又は3に記載の機器。

35. マイクロシステム・プラットフォームが、微小操作装置に接続される電気コネクタと接触する電気コネクタを具備する、請求項1、2又は3に記載の機器。

36. 微小操作装置がマイクロプロセッサとそれに接続されるメモリを含む、請求項1、2又は3に記載の機器。

37. 微小操作装置が命令セットを読み取るための読取り手段又は書込み手段を含む、請求項1、2又は3に記載の機器。

38. 読取り手段がコンパクト・ディスク・レーザ読取り手段である、請求項37に記載の機器。

39. 書込み手段がコンパクト・ディスク書込み手段で

ある、請求項37に記載の機器。

40. マイクロシステム・プラットフォームの第2の平坦な二次元面が、機械言語命令で符号化される、請求項1、2、3、4又は5に記載の機器。

41. 機械言語命令が、プラットフォームの動作、プラットフォームからのデータの取得または分析、データの記憶と検索、他の装置への通信、または直接機器性能診断を制御する、請求項40に記載の機器。

42. 微小操作装置が、機械言語命令で符号化される、読取専用メモリ、または恒久的な記憶メモリを具備する、請求項1、2又は3に記載の機器。

43. 機械言語命令が、プラットフォームの動作、プラットフォームからのデータの取得または分析、データの記憶と検索、他の装置への通信、または直接機器性能診断を制御する、請求項42に記載の機器。

44. さらに、各マイクロシステム・プラットフォームの1つの二次元面全体で互いに接触する第1マイクロシステム・プラットフォームと第2マイクロシステム・プラットフォームを含む、請求項1、2、3、4又は5に記載の機器。

45. マイクロシステム・プラットフォームが、約1 rpmから約30,000 rpmの速度で回転される、請求項44に記載の機器。

46. マイクロシステム・プラットフォーム上の流体が、毎秒約0.1 cmから毎秒約1000 cmの流体速度で

プラットフォームのマイクロチャネル内で移動される、請求項1、2、3、4又5に記載の機器。

47. マイクロシステム・プラットフォームが、

検体入口ポートのそれぞれが機能的に作用するように以下に連結される、プラットフォームの中心の回りに同心円的に配置される複数の検体入口ポートと、プラットフォームの中心から離れて放射状に配列され、以下に機能的に作用するように連結される複数のマイクロチャネルと、

測定対象の分析物に特殊な試薬が入り、貯蔵器のそれぞれからの試薬の解放がマイクロ弁によって制御され、複数のマイクロチャネルも以下に機能的に作用するように連結される、複数の試薬貯蔵器と、

マイクロプラットフォームの外縁の回りに周縁的に配置される複数の分析物検出チャンバーと、  
を含み、

検体入口ポートからの、およびマイクロチャネルを通る生物学的な検体の移動、および試薬貯蔵器からの、およびマイクロチャネルを通る試薬の移動が、マイクロシステム・プラットフォームの回転運動によって生じる向心力によって動かされる、

生物学的検体中の分析物の量を測定するための、請求項1、2又は3に記載の機器。

48. 生物学的な検体が血液、尿、髄液、血漿、唾液、精液、または羊水である、請求項47に記載の機器。

49. 分析物検出チャンバーが光学的に透明である、請求項47に記載の機器。



50. さらにマイクロ弁のそれぞれと電気コントローラ装置の間の電氣的な配線を含む、弁の開閉がコントローラ装置からの電気信号によって制御される、請求項47に記載の機器。

51. マイクロチャネルが、プラットフォームの中心から周辺部に直線状に配列される、請求項47に記載の機器。

52. マイクロチャネルが、プラットフォームの中心から周辺部に同心円的に配列される、請求項47に記載の機器。

53. 微小操作装置が検出手段を含む、請求項47に記載の機器。

54. 検出手段が静止しており、プラットフォームの回転の頻度またはその倍数に等しい頻度で分析物検出チャンバー出力をサンプリングする、請求項47に記載の機器。

55. 検出手段がストロボスコープ光源を含む、請求項47に記載の機器。

56. 検出手段が単色光源である、請求項47に記載の機器。

57. 検出手段が、蛍光、化学ルミネセンス、光分散、または放射能を検出する、請求項47に記載の機器。

58. 生物学的な検体中の分析物の量を測定するための方法であって、  
生物学的な検体を請求項47に記載のマイクロシステ

ム・プラットフォームの検体入口ポートに塗布するステップと、

マイクロシステム・プラットフォームを微小操作装置内に配置するステップと、  
マイクロチャネルを通して検体入口オートから分析物を含む生物学的な検体を動かすのに十分な時間、および速度でマイクロシステム・プラットフォームに回転運動を提供するステップと、

試薬がマイクロチャネルの中に移動し、生物学的な検体と混合される時間および期間の間、制御装置から信号を生成することによって、試薬貯蔵器からの試薬の解放を制御するマイクロ弁のそれぞれを開放するステップと、

生物学的な検体と、装置を含む検出器が、生物学的な検体中に存在する分析物の量に比例する信号を検出する分析物検出チャンバー内の試薬の混合を観察するステップと、



生物学的な検体中の分析物の量の測定値を記録するステップと、  
を含む方法。

59. 生物学的な検体が、血液、尿、髄液、血漿、唾液、精液または羊水である、請求項58に記載の方法。

60. 検体中の分析物の量の測定値が、装置内で、マイクロプラットホーム上で、あるいはその両方で記録される、請求項58に記載の方法。

61. マイクロシステム・プラットホーム上の分析物検

出チャンバーが光学的に透明である、請求項58に記載の方法。

62. 検出された信号が分析物であり、検出チャンバーがプラットホームまたはそのmultiplesdの回転の頻度に等しい頻度で検出される、請求項58に記載の方法。

63. 検出された信号が単色光源である、請求項58に記載の方法。

64. 検出された信号が蛍光信号、化学ルミネセンス信号、または比色信号である、請求項63に記載の方法。

65. マイクロシステム・プラットホームが、

プラットホームの中心の回りに同心円的に配列され、検体ポートが吸気穴と接続漏斗チャネルを含み、検体入口ポートのそれぞれが機能的に作用するように以下に連結される、複数の検体入口ポートと、

プラットホームの中心から放射状に配列され、機能的に作用するように以下に連結される複数のマイクロチャネルと、

検出対象の気体または粒子に特殊な試薬が入った、貯蔵器のそれぞれからの試薬の開放がマイクロ弁によって制御され、マイクロ弁がコントローラ装置と電気接触し、複数のマイクロチャネルも機能的に操作するように以下に連結される、複数の試薬貯蔵器と、

マイクロプラットホームに配列される複数の気体または粒子の検出器と、  
を含み、

検体入口ポートからの、およびマイクロチャネルを通る環境検体の移動と、試

薬貯蔵器からの、およびマイクロチャネルを通る試薬の移動が、マイクロシステム・プラットフォームの回転運動により生じる向心力により動かされる、環境検体を含む気体または粒子を検出するための請求項1、2又は3に記載の機器。

66. 環境検体が、空気、水、土壌、または粉碎された生物学的物質を含む、請求項65に記載の機器。

67. 検出器がガス・センサ・チップを含む、請求項65に記載の機器。

68. 検出器が、光学的に透明の粒子回収チャンバーを含む、請求項65に記載の機器。

69. 検出器がコヒーレント光源も含む、請求項68に記載の機器。

70. 粒子が光分散により検出される、請求項69に記載の機器。

71. 検出器が、マイクロチャネルによって、粒子を化学的に試験するための試薬を含む試薬貯蔵器に機能的に作用するように接続される粒子回収チャンバーを含む、請求項65に記載の機器。

72. 臭境検体を含む気体または粒子を検出するための方法であって、環境検体を請求項65に記載のマイクロシステム・プラットフォームの検体入口ポートに接触させるステップと、

マイクロシステム・プラットフォームを微小操作装置内に配置するステップと、マイクロチャネルを通して検体入口ポートから気体のまたは粒状の環境検体を動かすのに十分な時間の間、および速度でマイクロシステム・プラットフォームに回転運動を提供するステップと、

試薬がマイクロチャネル内に移動し、環境検体と混合される時間で、および期間の間、制御装置から信号を生成することにより、試薬貯蔵器からの試薬の開放を制御するマイクロ弁のそれぞれを開放するステップと、

検出器が、環境検体中に存在する気体または微粒子の量に比例した信号を検出する気体または粒子の検出チャンバー内で、直接的に、環境検体と試薬の混合物または環境検体の気体構成要素または粒状の構成要素を検出するステップと、

気体の量または環境検体の中の粒子の量を計量するステップと、

を含む、方法。

73. 環境検体が、空気、水、土壌、または粉碎された生物学的な物質を含む、請求項72の方法。

74. 気体が、ガス・センサ・チップによって検出される、請求項72に記載の方法。

75. 粒子が、光学的に透明な粒子回収チャンバーで検出される、請求項72に記載の方法。

76. 粒子がコヒーレント光分散により検出される、請

求項72に記載の方法。

77. 粒子が、粒子を化学的に試験するための試薬を含む試薬貯蔵器にマイクロチャンネルによって機能的に作用するように接続される粒子回収チャンバーで検出され、微粒子が、マイクロ弁の起動およびプラットフォームの回転による試薬の解放後に、マイクロチャンネル内の試薬と、混合、反応される、請求項72に記載の方法。

78. マイクロシステム・プラットフォームが、マイクロチャンネル、検体入口ポート、反応物貯蔵器、反応チャンバーおよび検体出口ポートを含む薄膜ディスクの積み重ねられた層から構成され、積み重ねられた膜ディスクのそれぞれが自立式で、本発明のプラットフォームを提供する、請求項1、2、3、4又は5に記載の機器。

79. マイクロシステム・プラットフォームが、約100 $\mu$ mの直径のマイクロチャンネルの放射状のアレイから構成され、マイクロチャンネルが凝固を防止するためにヘパリンで処理され、マイクロチャンネルがディスクの中心に近接の一端で開放されている、血液検体からヘマトクリット値を求めるための請求項1、2又は3に記載の機器であって、コヒーレント光源と、微小操作装置を含む、機能的に作用するようにそれに接続される記録手段も含み、血液検体のマイクロチャンネルを通る移動が、マイクロシステム・プラットフォームの回転運動により生じる向心力によって動かされる機器。

80. コヒーレント光源が、プラットフォームの回転の中

心から放射状に配列される可動トラック上に取り付けられる、請求項79に記載の機器。

81. さらに、マイクロシステム・プラットフォームのマイクロチャネルのそれぞれに機能的に作用するように接続されるクランク電極を含み、電極がマイクロチャネル内の血液検体と接触する、請求項79に記載の機器。

82. さらに、マイクロシステム・プラットフォームのマイクロチャネルのそれぞれに機能的に作用するように接続される切断電極を含み、電極がマイクロチャネル内の血液検体と接触する、請求項79に記載の機器。

83. 血液検体からヘマトクリット値を求めるための方法であって、

血液検体を請求項79に記載のマイクロシステム・プラットフォームのマイクロチャネルの近接端に塗布するステップと、

マイクロシステム・プラットフォームを微小操作装置内に配置するステップと、

マイクロチャネルの程度に沿って移動するための血液検体を含む赤血球を動かすのに十分な時間と速度でマイクロシステム・プラットフォームに回転運動を提供するステップと、

コヒーレント光源でマイクロチャネルをその長さに沿ってスキャンするステップと、

赤血球と血漿の間の境界を限定するマイクロチャネルに沿った任意の位置にある光分散での変化を検出するス

テップと、

各マイクロチャネルの境界の位置を記録するステップと、

ヘマトクリット値を境界の位置に関係付ける標準的な曲線と、各マイクロチャネルのこの境界の位置を比較し、それによって求められたヘマトクリットを記録するステップと、

を含む方法。

84. 血液検体から血液酸素化値を求めるための方法であって、

血液検体を、請求項81に記載のマイクロシステム・プラットフォームのマイクロチャネルの近接端に塗布するステップと、

マイクロシステム・プラットフォームを微小操作装置内に配置するステップと、  
マイクロチャンネルに接続されるクラーク電極に接触するために血液検体を動かすのに十分な時間と速度でマイクロシステム・プラットフォームに回転運動を提供するステップと、

he血液検体の血液酸素化値を検出するステップと、

それによって求められた血液酸素化値を記録するステップと、  
を含む方法。

85. マイクロシステム・プラットフォームが、複数の検体入力手段、反応物貯蔵器、反応チャンバー、マイクロ

弁、およびそれに機能的に作用するように接続され、その中に埋め込まれたマイクロチャンネルを含み、マイクロシステム・プラットフォームが層の積み重ねられたアレイから構成され、第1層が検体入力手段、反応物貯蔵器、反応チャンバー、およびマイクロチャンネルを含み、第2層がマイクロ弁を含み、第3層がマイクロ弁から電気コントローラ装置への電気コネクションを含み、第4層が密封層を含み、層がマイクロシステム・プラットフォームの一般的な基板の上部に積み重ねられ、それに溶融される、請求項1、2、3、4又は5に記載の機器。



## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/US 96/19514

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 G01N21/07 B01L3/00 G01N33/487

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 G01N B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 0 417 305 A (IDEMITSU PETROCHEMICAL CO LTD) 20 March 1991	1-33, 35-50, 52-63, 78, 82, 79
A	see the whole document	
Y	EP 0 616 218 A (HITACHI LTD) 21 September 1994	1-21, 30-33, 35-50, 52-63
	see column 7, line 54 - column 11, line 29	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \* "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \* "E" earlier document but published on or after the international filing date
- \* "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \* "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \* "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

- \* "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \* "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

\* "A" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 March 1997

Date of mailing of the international search report

26.03.97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bindon, C



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/US 96/19514

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CLINICAL CHEMISTRY, vol. 38, no. 9, 1 September 1992, pages 1665-1670, XP000319980 SCHEMBRI-C T ET AL: "PORTABLE SIMULTANEOUS MULTIPLE ANALYTE WHOLE-BLOOD ANALYZER FOR POINT-OF-CARE TESTING" see page 1666, left-hand column, last paragraph - page 1668, left-hand column, last paragraph	18-20,54
Y	WO 93 22058 A (TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA) 11 November 1993 cited in the application see the whole document	22-29
Y	EP 0 305 210 A (BIOTRACK INC) 1 March 1989 see page 6, line 3 - page 7, line 51	28,29
A	EP 0 322 657 A (MILES INC) 5 July 1989 see the whole document	28,29
Y	US 3 679 367 A (NEGERSMITH KENT M) 25 July 1972 see the whole document	78,82
A	DE 44 10 224 A (KNOLL MEINHARD) 28 September 1995 see column 2, line 31 - column 4, line 42	64
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 016, no. 035 (P-1304), 28 January 1992 & JP 03 245049 A (IDEMITSU PETROCHEM CO LTD), 31 October 1991, see abstract	1,80,81
A	US 4 940 527 A (KAZLAUSKAS ET AL) 10 July 1990 see the whole document	1-3
A	CLINICAL CHEMISTRY, vol. 40, no. 9, 1 September 1994, pages 1805-1809, XP000444697 ARQUINT P ET AL: "MICROMACHINED ANALYZERS ON A SILICON CHIP" see page 1805 - page 1806	80,81

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. Application No.

PCT/US 96/19514

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 417305 A	20-03-91	JP 3225278 A	04-10-91
		JP 2232563 A	14-09-90
		JP 6023767 B	30-03-94
		JP 2269969 A	05-11-90
		JP 6019359 B	16-03-94
		CA 2028829 A	08-09-90
		WO 9010875 A	28-09-90
EP 616218 A	21-09-94	JP 6265447 A	22-09-94
		US 5480614 A	02-01-96
WO 9322058 A	11-11-93	US 5304487 A	19-04-94
		US 5296375 A	22-03-94
		AT 140025 T	15-07-96
		AT 140880 T	15-08-96
		AU 4222393 A	29-11-93
		AU 4222593 A	29-11-93
		AU 4222693 A	29-11-93
		AU 4222793 A	29-11-93
		AU 4223593 A	29-11-93
		CA 2134474 A	11-11-93
		CA 2134475 A	11-11-93
		CA 2134476 A	11-11-93
		CA 2134478 A	11-11-93
		DE 69303483 D	08-08-96
		DE 69303483 T	06-02-97
		DE 69303898 D	05-09-96
		DE 69303898 T	20-02-97
		EP 0637996 A	15-02-95
		EP 0637997 A	15-02-95
		EP 0639223 A	22-02-95
		EP 0637998 A	15-02-95
		EP 0637999 A	15-02-95
		JP 7506430 T	13-07-95
		JP 7506431 T	13-07-95
		JP 7506256 T	13-07-95
		JP 7506257 T	13-07-95
		JP 7506258 T	13-07-95
		WO 9322053 A	11-11-93
		WO 9322054 A	11-11-93

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. Application No.

PCT/US 96/19514

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9322058 A	11-11-93	WO 9322421 A	11-11-93
		WO 9322055 A	11-11-93
		US 5427946 A	27-06-95
		US 5498392 A	12-03-96
		US 5587128 A	24-12-96
		US 5486335 A	23-01-96
EP 305210 A	01-03-89	US 4868129 A	19-09-89
		US 5077017 A	31-12-91
		AU 615208 B	26-09-91
		AU 2163988 A	02-03-89
		CA 1333850 A	10-01-95
		DE 3886140 D	20-01-94
		DE 3886140 T	19-05-94
		ES 2049254 T	16-04-94
		JP 1257268 A	13-10-89
		JP 7056492 B	14-06-95
		US 4946795 A	07-08-90
EP 322657 A	05-07-89	US 4999304 A	12-03-91
		JP 1297159 A	30-11-89
US 3679367 A	25-07-72	AU 3328471 A	15-03-73
		BE 772569 A	14-03-72
		CA 930568 A	24-07-73
		CH 534871 A	15-03-73
		DE 2145784 A	23-03-72
		FR 2107628 A	05-05-72
		GB 1352256 A	08-05-74
		NL 7112533 A,B	16-03-72
		SE 373951 B	17-02-75
DE 4410224 A	28-09-95	NONE	
US 4940527 A	10-07-90	AU 602581 B	18-10-90
		AU 1679688 A	01-12-88
		CA 1297946 A	24-03-92
		DE 3888577 D	28-04-94
		DE 3888577 T	04-08-94
		EP 0293858 A	07-12-88

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/US 96/19514

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4940527 A		ES 2053622 T	01-08-94
		JP 1088147 A	03-04-89
		US 5001417 A	19-03-91
		US 5134359 A	28-07-92
-----			

## フロントページの続き

(51) Int. Cl.	識別記号	F I	テ-マ-ト (参考)
G 0 1 N 27/416		G 0 1 N 31/20	
31/20		37/00	1 0 1
37/00	1 0 1	27/46	3 0 1 Z
(31) 優先権主張番号	6 0 / 0 0 8, 8 1 9		
(32) 優先日	平成7年12月18日(1995. 12. 18)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	6 0 / 0 2 3, 7 5 6		
(32) 優先日	平成8年8月12日(1996. 8. 12)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(81) 指定国	EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, L U, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(KE, LS, MW, SD, S Z, UG), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, I L, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, R U, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN		
(72) 発明者	キーファー—ヒギンズ、スティーヴン ジー。		
	アメリカ合衆国 02124 マサチューセツ州 ドーチェスター ポーモント ストリート 30		
(72) 発明者	コーリー、ジョージ デイ。		
	アメリカ合衆国 02165 マサチューセツ州 ニュートン ハーディング ストリート 65		

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images  
problems checked, please do not report the  
problems to the IFW Image Problem Mailbox**